

ISOLIERUNG UND STRUKTURERMITTLUNG VON VIER
GLEISONEN, EINER NEUEN GRUPPE VON
ACTINOMYCETENFARBSTOFFEN

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Hartwig Peterssen-Borstel
aus Adelsdorf/Schlesien

Göttingen 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Isolierung und Strukturermittlung von vier Gleisonen,
einer neuen Gruppe von Actinomycetenfarbstoffen.

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Hartwig Peterssen-Borstel
aus Lübeck

Göttingen 1966



D 7

Referent: Professor Dr. H. Brockmann

Korreferent: Professor Dr. W. Lüttke

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1966

Die vorliegende Arbeit wurde im Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen in der Zeit von Dezember 1961 bis Dezember 1966 durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. Hans Brockmann,
danke ich für die interessante Auf-
gabenstellung und die großzügige
Förderung meiner Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

	THEORETISCHER TEIL	Seite
Einleitung		1
I.	Kultur des Streptomyces-Stammes Gleis 347	4
II.	Isolierung der Farbstoffe von Stamm Gleis 347	5
III.	Vergleichende Untersuchungen der Gleisone	12
IV.	δ -Gleison	14
	1) Kurze Charakterisierung	14
	2) Der Grundkohlenwasserstoff	14
	3) Der Chromophor (Ring A-C)	19
	4) Struktur der Ringe E und F	29
	5) Die Verknüpfung des Anthrachinonchromophors mit der Isocumarinstruktur	42
V.	γ -Gleison	47
	1) Kurze Charakterisierung	47
	2) Struktur von γ -Gleison	47
VI.	β -Gleison	52
	1) Kurze Charakterisierung	52
	2) Struktur von β -Gleison	52
VII	α -Gleison	60
VIII	Umwandlung von β - in δ -Gleison	63
IX	Zur Biosynthese der Gleisone	65
	Zusammenfassung der Ergebnisse	68

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

I.	Allgemeines	69
II.	Gewinnung und Isolierung der Gleisone	70
	1) Kultur des Stammes Gleis 347 und Aufarbeitung eines Ansatzes	
	2) Chromatographische Trennung des Rohproduktes an Polyamid	
	3) Weitere Auftrennung von Fraktion 1.3; Gewinnung von α -Gleison	

4)	Weitere Auftrennung der Fraktion 1.2	
5)	Weitere Auftrennung der Fraktion 2.2 im System III und Gewinnung von γ -Gleison	
6)	Weitere Auftrennung der Fraktion 2.3 in den Systemen II und I	
III.	Zinkstaubdestillation von δ -Gleison sowie von α -, β - und γ -Gleison	74
IV.	Wasserabspaltungsprodukte	75
	1) Anhydro- δ -gleison	
	2) Anhydro- γ -gleison	
	3) Anhydro- β -gleison	
V.	Acetate	77
	1) Anhydro- δ -gleison-tetraacetat	
	2) Anhydro- γ -gleison-pentaacetat	
	3) Acetylierung von β -Gleison	
	4) Anhydro- α -tetraacetat	
VI.	Entmethylierung von δ -Gleison	80
VII.	Methylierung von δ -Gleison	81
VIII.	Umwandlung von β -Gleison in δ -Gleison	81
	Literaturverzeichnis	83

THEORETISCHER TEIL

Einleitung

Die Entdeckung antibiotisch wirksamer Naturstoffe bedeutete nach der Entwicklung der Sulfonamidtherapie einen weiteren großen Fortschritt in der Chemotherapie der Erregerkrankheiten. Antibiotica besitzen zum Teil hervorragende therapeutische Eigenschaften; insbesondere haben sie bei guter Verträglichkeit für den Menschen eine hohe Wirksamkeit, die sehr spezifisch gegen ganz bestimmte Gruppen von pathogenen Mikroorganismen gerichtet sein kann.

Für eine Chemotherapie von Tumoren^{1,2,3)} sind dagegen die Voraussetzungen sehr viel weniger günstig, da hier keine völlig fremdartigen Erreger sondern nur in bestimmten Funktionen entartete Zellen vorliegen, deren Chemismus dem der entsprechenden gesunden Zellen weitgehend gleicht. Damit fehlt für eine gezielte Schädigung der Tumorzellen durch chemische Einwirkung der Ansatzpunkt. Man hat zwar eine Anzahl von Substanzen gefunden, die im Tierversuch das Wachstum von Tumoren hemmen. Einer therapeutischen Anwendung steht aber ihre Toxizität entgegen. Ihre Hemmwirkung richtet sich nicht spezifisch gegen Tumorzellen, sondern auch gegen gesundes Gewebe. Man bezeichnet sie deshalb als Cytostatica. Naturgemäß schädigen Cytostatica die schnell wachsenden Gewebe am stärksten. Daher treten in der therapeutischen Anwendung neben der erwünschten tumorhemmenden Wirkung meistens gleichzeitig Schäden im blutbildenden System des Knochenmarks und in anderen Geweben auf. Trotzdem sind diese Substanzen für Wissenschaft und Therapie von großem Interesse.

Cytostatisch wirksame Stoffe kommen ähnlich wie Antibiotica als Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen vor. Besonders Streptomyceten bilden zum Teil recht kompliziert gebaute Substanzen mit ausgeprägten antibiotischen und cytostatischen Eigenschaften.

Bei systematischen Untersuchungen von Streptomyces-Stämmen fand man, daß das Filtrat von Kulturen des Stammes "Gleis 347" das Wachstum des Ehrlichschen Ascites-Tumors hemmte. Diese cytostatische Wirksamkeit war zwar nur schwach, ließ aber, da auch die Toxizität der Lösung gering war, eine eingehende Untersuchung der Kulturen auf die wirksamen Substanzen aussichtsreich erscheinen. Erstes Ziel meiner Arbeit war es, die Isolierung der wirksamen Substanzen zu versuchen und, wenn möglich, ihre Struktur aufzuklären.

Da zahlreiche Cytostatica auch antibiotisch wirksam sind, kann man diese Eigenschaft manchmal bei ihrer Isolierung als Indikator benutzen. Beim "Gleis 347" schied diese Möglichkeit aus; zwar waren die Kulturfiltrate gut wirksam gegen *Asp. niger*, da diese fungistatische Wirksamkeit aber bis zum Abbruch der Kulturen nach 10 Tagen deutlich zunahm, konnte sie nicht zu der cytostatisch wirksamen Komponente gehören, deren Konzentration nach den Testergebnissen ihr Maximum bereits nach 5-6tägiger Kulturdauer hatte, und die nach 9 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Die cytostatische Wirksamkeit selbst erwies sich bei einer Reihe von Testkulturen unter Verwendung verschiedener Nährmedien sowohl im Kulturfiltrat als auch in Acetonextrakten des Mycels als gering. Man konnte daher annehmen, daß entweder die Wirksamkeit der gesuchten Substanz gering war oder daß die wirksame Substanz nur in sehr niedrigen Konzentrationen vorlag. Da die Testergebnisse dabei häufig schlecht reproduzierbar waren, konnte man vermuten, daß aufgrund einer hohen Mutationsrate die Bildung von Cytostatica stark schwankte oder daß die wirksamen Substanzen so empfindlich waren, daß sie sich schon in der Kultur oder bei den Tests zersetzten. Unter diesen Umständen schien mir eine Anreicherung oder Isolierung der Cytostatica aus "Gleis 347" mit Hilfe des Ehrlich-Ascites-Tumortests als Indikator praktisch ausgeschlossen.

Ähnliche Schwierigkeiten treten manchmal bei der Isolierung von empfindlichen glykosidischen Naturstoffen auf, die nicht nur bei der Aufarbeitung sondern schon während des

Wachstums der Kulturen teilweise hydrolysiert werden.

Ein Beispiel hierfür sind die cytostatisch und antibiotisch hochwirksamen Rhodomycine⁴⁾, welche Glykoside von Hydroxy-anthrachinonderivaten, den Rhodomycinonen sind. Man findet sie in den Kulturen neben den freien Aglykonen, welche fast unwirksam sind und daher von den entsprechenden biologischen Tests nicht mehr erfaßt werden. Die Bearbeitung der Aglykone ist dann verhältnismäßig einfach, da sie chemisch beständig sind.

Unter der Annahme, daß ähnliche Verhältnisse auch in den Kulturen von "Gleis 347" vorliegen könnten, beschloß ich in Abänderung des ursprünglichen Planes, zunächst besonders charakteristische, gefärbte Inhaltsstoffe der Kulturen zu isolieren und zu untersuchen, ohne dabei die cytostatische Wirksamkeit besonders zu berücksichtigen. Erst später sollte dann geprüft werden, ob diese Substanzen in Beziehungen zu den wirksamen Komponenten stehen, wie man in Analogie zu den Rhodomycinen vermuten konnte.

I. Kultur des Streptomyces-Stammes Gleis 347

Für Kulturen des Streptomyces-Stammes Gleis 347 erwies sich eine Nährlösung als besonders geeignet, die Glycerin, Kaliumnitrat und Spurenelemente enthielt. Außer den Vorteilen, die dieses Medium für die Aufarbeitung bot, erlaubte es eine leichte Beobachtung der Mycel- und Farbstoffbildung. Auch fielen die Mycelbildung und die Ergebnisse des Ehrlich-Ascites-Tumortests bei Verwendung dieser Nährlösung am besten aus.

Die Schüttelkolbenkulturen nahmen nach 4-5tägigem Wachstum allmählich schwach braune Farbtöne an, die sich bei längerer Kulturdauer weiter vertieften. Die Mycelbildung war meistens spärlich. Erst nach 4 Tagen bildete sich ein weißer Mycelrand, der über gelbliche Farbtöne nach insgesamt 7-8 Tagen dunkelgrün wurde. Das Maximum der cyto statischen Wirksamkeit fiel dabei in das Stadium beginnender Grünfärbung des Mycels.

Für meine ersten chemischen Untersuchungen schienen die Farbstoffe besonders geeignet zu sein, die dem Mycel nach längerem Wachstum die dunkelgrüne Farbe verliehen und nur in geringen Mengen in die Kulturlösung übertraten. Da bei Schüttelkolben- und Submerskulturen die Mycelmenge und damit die Menge der darin enthaltenen Substanzen gering blieb, ging ich später zu Oberflächenkulturen in P-Kolben über, in denen sich ein dichter Mycelrasen bildet, dessen Farbe über gelbe und grünliche Farbtöne schließlich dunkelgrün, dunkelblau oder fast schwarz wurde. Diese starke Farbstoffbildung trat jedoch nur in einem Drittel der Kulturen ein; in den übrigen Kolben war das Wachstum schlecht, das Mycel sank unter und wuchs dann nicht mehr weiter, oder aber es wucherte besonders schnell, ohne dabei Farbstoff zu bilden. Diese Beobachtungen ließen den Schluß zu, daß entweder das Impfmateri al nicht einheitlich war oder sehr schnell degenerierte. Deshalb wurden Einsporkulturen gemacht, aus welchen ich durch Probeansätze diejenigen Isolate auswählte, die das kräftigste und am stärksten blau gefärbte Mycel lieferten.

II. Isolierung der Farbstoffe von Stamm Gleis 347

Mit dem aus Einsporkulturen gewonnenen Impfmateriail beimpfte ich einen Kulturansatz von 1000 P-Kolben und ließ ihn drei Wochen bei 28° wachsen, bis das Mycel dunkelblau oder dunkelgrün gefärbt war. Das fast farblose, cytostatisch unwirksame Kulturfiltrat wurde verworfen. Aus dem Mycel erhielt ich mit Aceton einen tiefblauen, schwach alkalischen Extrakt, dessen Farbe beim Neutralisieren in rotbraun umschlug. Der Extrakt wurde im Vakuum vorsichtig eingeengt, bis ein Teil der gelösten Substanzen schmierig ausfiel. Den Chloroformextrakt aus diesem Konzentrat reinigte ich durch Ausschütteln mit acetonhaltigem Wasser, wobei ich größere Anteile gelber und farbloser biologisch unwirksamer Komponenten entfernen konnte. Auf diese Weise erhielt ich nach Trocknen des Chloroformauszugs mit Natriumsulfat und Ausfällen mit Petroläther, ohne höhere Temperaturen anzuwenden, ein pulvertrockenes Rohprodukt, von dem ich annehmen konnte, daß es auch empfindlichere Substanzen unzersetzt enthielt. Dieses Rohprodukt löste sich in organischen Lösungsmitteln mit roter, in Alkalihydroxid mit blauer Farbe.

Zunächst prüfte ich, ob in dem Gemisch besonders charakteristische Substanzen vorlagen, und ob eine Identität einzelner Komponenten mit schon bekannten Naturstoffen nachgewiesen werden konnte. Anhand von Farbreaktionen und Papierchromatogrammen verglich ich die Bestandteile meines Rohproduktes mit Vertretern aus der Gruppe der Hydroxy-naphthochinone, Hydroxy-anthrachinone und Hydroxy-tetracenchinone. Dabei fand ich keine Verbindung, die mit einer der intensiv gefärbten Komponenten meines Rohproduktes identisch war.

Recht aufschlußreich war jedoch der Vergleich mit Rhodomycinonen⁴⁾, einer Gruppe von Hydroxy-anthrachinonfarbstoffen. In dem für verteilungschromatographische Trennungen in dieser Substanzgruppe häufig verwendete Lösungsmittelsystem Tetralin/Dekalin/Eisessig/Wasser (10:10:5:1) bildete mein Rohprodukt zwei Hauptzonen. Sie wurden in Analogie zu den Rhodomycinonen, mit denen sie offenbar eine gewisse Ähnlichkeit aufwiesen,

nach steigendem R_F -Wert mit kleinen griechischen Buchstaben bezeichnet. Die gelbrote, intensiv gelb fluoreszierende Zone mit dem größeren R_F -Wert wurde γ -, die zweite violette, nur schwach rot fluoreszierende Zone β -Zone genannt. Eine blaue Substanz, die in etwa gleicher Menge vorzuliegen schien und mit α bezeichnet wurde, entfärbte sich beim Entwickeln rasch und ging anscheinend in eine blaßgelbe Zone über, die am Startfleck hängen blieb. Nach der Stammbezeichnung Gleis 347 und in der Annahme, daß es sich bei diesen Substanzen um Chinone handelte, bezeichnete ich die Substanzgruppe als Gleisone.

α -, β -, und γ -Gleison fand ich in allen späteren Kulturen von Gleis 347 in wechselnden Mengenverhältnissen wieder und sah sie deshalb als besonders charakteristisch für diesen Stamm an. Daneben fand ich häufig in P-Kolben-, seltener auch in Schüttelkolbenkulturen, andere blaue, violette, rote und gelbe Zonen, die beim Betupfen mit Alkalihydroxid wie auch β - und γ -Gleison Blaufärbungen ergaben und wahrscheinlich in derselben Substanzgruppe einzuordnen sind. An der Lösungsmittelfront lief meistens eine gelbe Zone, die mit Alkalihydroxid keine Blaufärbung ergab. Sie enthielt relativ viel einer rotbraunen Substanz, die nicht weiter untersucht wurde.

Mein Plan war, zunächst α -, β - und γ -Gleison als die charakteristischen Substanzen aus dieser Gruppe zu isolieren und ihre Struktur aufzuklären. Dies war als Vorarbeit zur Isolierung und Strukturaufklärung der wirksamen Substanzen gedacht.

Versuche, das beschriebene System für präparative Trennungen von β - und γ -Gleison, wenn nötig unter Verlust des empfindlichen α -Gleisons, auf Säulen zu übertragen, waren erfolglos. Ersetzte man das viskose Tetralin oder Dekalin durch Gemische von Toluol, Benzol und Petroläther, so erhielt man im Papierchromatogramm günstige R_F -Werte der Hauptkomponenten, wenn man das Verhältnis von Benzol zu Petroläther 1:1 wählte. Die Löslichkeit der Hauptkomponenten in diesem System war aber so gering, daß man die Oberphase damit kaum anfärben konnte. Es mußten also andere Laufmittelsysteme mit ähnlichem Trennvermögen und höherer Kapazität gefunden werden. Insbesondere

wurden dabei die folgenden Lösungsmittel verwendet, die hier ungefähr in der Reihenfolge ihres Lösungsvermögens geordnet sind: Pyridin, Formamid, Dimethylformamid, Chloroform und Aceton.

An sauer aktiviertem Kieselgel mit Chloroform als Laufmittel bekam ich nur eine etwa zehnfache Anreicherung der drei Verbindungen in einer roten Zone, während gelbe Zonen vorher ins Filtrat gewaschen wurden und violette, braune und gelbe Substanzen auf der Säule zurückblieben. Eine bessere Trennung erzielte ich an schwach aktiviertem Gips mit einem Chloroform/Benzol-Gemisch als Laufmittel. Die geringe Kapazität des Systems ließ sich durch Verwendung von stärker aktiviertem Gips und Chloroform als Laufmittel erheblich verbessern. Bei einem Verhältnis von 1g Rohprodukt auf 1kg Gips trennten sich die drei Gleisone mit R_F -Werten um 0,5 gut von schneller laufenden gelben Zonen und von größeren Mengen langsamer laufender blauer und violetter Fraktionen. Die drei Gleisone wurden auch hier in der gleichen Reihenfolge wie im Papierchromatogramm eluiert: γ -, β - und α -Gleison. Eine völlige Trennung dieser Substanzen voneinander war jedoch auch in diesem System nicht möglich. Es konnten nur Fraktionen abgenommen werden, die β - und γ -Gleison oder α - und β -Gleison enthielten. Ein großer Fortschritt war, daß sich das blaue α -Gleison in diesem System nicht merklich zersetzte. An gereinigten Präparaten konnte aber eindeutig gezeigt werden, daß es im System Tetralin/Dekalin/Eisessig/Wasser tatsächlich rasch entfärbt wird. Die bisher als γ -Gleison bezeichnete Fraktion trennte sich an Gips in eine schneller laufende karminrote, leuchtend rot fluoreszierende und eine gelbrote, gelb fluoreszierende Zone. Für den Inhaltsstoff der karminroten Zone behielt ich die Bezeichnung γ -Gleison bei und nannte die gelbrote adsorbierte Substanz δ -Gleison.^{+) Eine}

+) An Gips läuft γ -Gleison schneller als δ -Gleison, in den später beschriebenen Systemen I, II und III aber ist die Reihenfolge umgekehrt, sodaß hier die Reihenfolge der R_F -Werte wieder den griechischen Buchstaben entspricht.

Nachprüfung im Tetralin/Dekalin-System zeigte, daß γ - und δ -Gleison hier den gleichen R_F -Wert haben, so daß die zuvor beschriebene γ -Zone ein Gemisch aus γ - und δ -Gleison ist.

Gips eignet sich also hauptsächlich dazu, die vier Gleisone schonend von den meisten Begleitsubstanzen, die für spätere Untersuchungen aufbewahrt wurden, zu trennen. Außerdem kann man das am schnellsten wandernde γ -Gleison von den drei übrigen Gleisonen trennen. Die Kapazität beträgt dann aber weniger als 10mg γ -Gleison auf 1kg Gips. Bessere Systeme zur Trennung der vier Gleisone fand ich nach Einführung der Dünnschichtchromatographie. Ich untersuchte zahlreiche ein- und zweiphasige Systeme unter Verwendung von "Kieselgel G" als Adsorptionsmittel oder als Träger der hydrophilen Phase.

Da keines der im Folgenden beschriebenen Systeme alle vier Gleisone gleichzeitig und mit brauchbaren Kapazitäten von einander zu trennen vermag, erscheint es mir zweckmäßig, zunächst die einzelnen Systeme zu beschreiben und dann erst den endgültigen Trennungsgang zusammenzustellen.

System I An Oxalsäure-Kieselgel mit Chloroform/Aceton (20:1) als Laufmittel ergibt sich nach steigenden R_F -Werten die Reihenfolge α -, β -, γ - und δ -Gleison. Zur präparativen Trennung der vier Komponenten ist das System nicht geeignet, da die Zonen relativ breit sind und alle vier R_F -Werte zwischen 0.6 und 0.75 liegen. Möglich ist eine Trennung geringer Mengen α -Gleison (R_F -Wert 0.6) von dem in diesem System nicht trennbaren γ - δ -Gemisch (R_F -Wert 0.75), wenn nur wenig β -Gleison (R_F -Wert 0.65) vorhanden ist. Das System trennt aber die vier Hauptkomponenten recht gut von zahlreichen Begleitsubstanzen und eignet sich daher für eine letzte Reinigung der zuvor in anderen Systemen getrennten Gleisone. Es empfiehlt sich jedoch nicht, dieses System schon für die erste Reinigung zu verwenden, da dann das Gleison-Gemisch meistens kristallin anfällt und nur schwer wieder gelöst werden kann.

System II Feines Kieselgel, Laufmittel: Unterphase der Mischung Chloroform/Formamid/Ameisensäure (10:1:1). Reihenfolge der

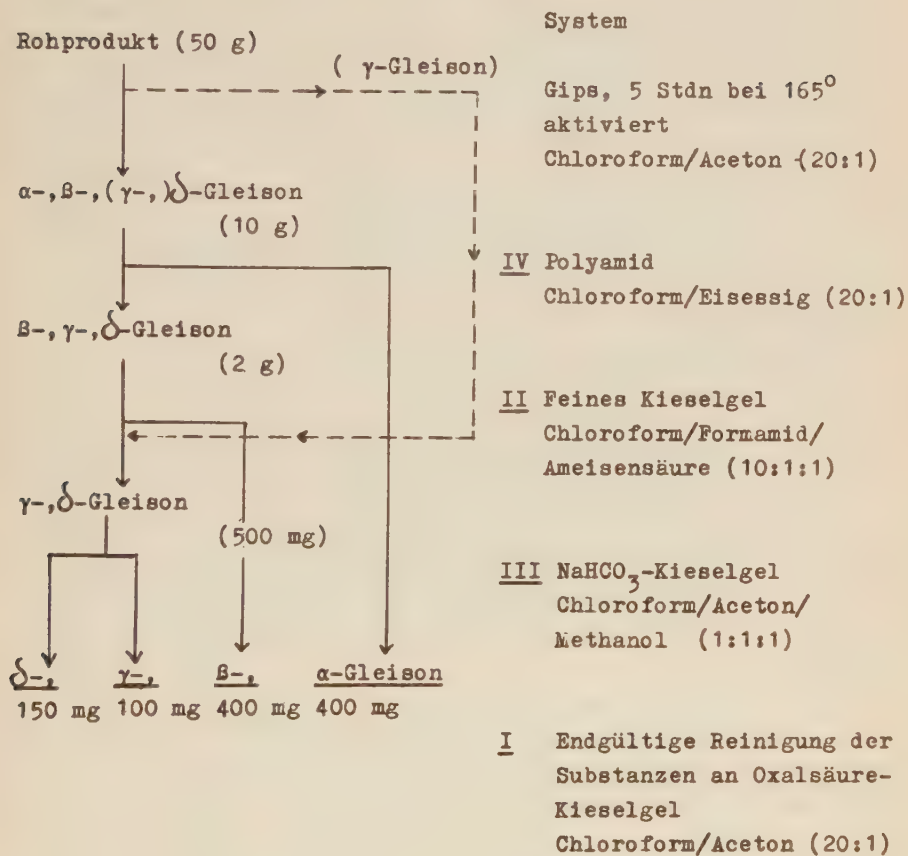
Substanzen: α -, β -, γ - und δ -Gleison. Die R_F -Werte von γ - und δ -Gleison, die in diesem System kaum voneinander getrennt werden können, sind etwa doppelt so groß (0.4) wie der von β -Gleison. α -Gleison (R_F -Wert 0.15) läuft noch wesentlich langsamer und kann recht gut von β -Gleison getrennt werden. Vorteil des Systems ist die saubere Trennung bei großer Kapazität: Von der Ausbeute eines 1000 l-Ansatzes konnte an 5kg Kieselgel das enthaltene β -Gleison glatt vom γ - δ -Gemisch getrennt werden. Ein Nachteil ist, daß die Laufgeschwindigkeit der mit Formamid/Ameisensäure imprägnierten Kieselgelsäulen auch bei Chromatographie unter Druck, ganz abgesehen von den ohnehin niedrigen R_F -Werten, sehr langsam ist: Bei Säulen von 1m Länge dauert es zwei Wochen und länger, bis die Zone des β -Gleisons ins Filtrat läuft. Dabei wird das α -Gleison auch bei Arbeit im Dunkeln allmählich zerstört, sodaß es zu empfehlen ist, α -Gleison schon vorher abzutrennen.

System III NaHCO_3 -Kieselgel, Laufmittel: Chloroform/Aceton/Methanol (1:1:1); Reihenfolge der Substanzen: (β -), γ -, δ -, (β -) Gleison. Am schnellsten läuft in diesem System ein Teil des β -Gleisons als blaue, über die ganze Säule verschmierte Zone ins Filtrat. Der größte Teil des β -Gleisons aber wird am Kopf der Säule fest adsorbiert, wobei sich die Substanz zersetzt. α -Gleison zersetzt sich in diesem System ebenfalls sehr rasch nach Adsorption am Kopf der Säule. Werden diese beiden Komponenten jedoch vorher entfernt, so eignet sich das System sehr gut zur Trennung von γ - und δ -Gleison. γ -Gleison bleibt mit blauer Farbe am Kopf der Säule adsorbiert, wobei es Zersetzung erleidet; δ -Gleison wandert als rote, leuchtend rot fluoreszierende Zone in Filtrat. Dieses System erlaubt als einziges eine saubere Trennung von γ - und δ -Gleison bei hoher Kapazität; an einem kg Kieselgel kann man 200mg des Gemisches sauber trennen. Schwierigkeiten wegen der geringen Löslichkeit der Substanzen treten nicht auf; auch aus Chloroform erhaltene kristalline Gemische, die sonst nur schwer wieder in Lösung zu bringen sind, lösen sich in dem Lösungsmittelgemisch, ggf. nach Anlösen in methanolischer Natriumhydrogencarbonat-Lösung.

System IV Die Chromatographie an Polyamid ist ein schnelles Verfahren, um α -Gleison aus dem Rohgemisch abzutrennen. Man kann das Gleison-Gemisch in beliebiger Menge Aceton gelöst auf die Säule geben, da die gesuchten Substanzen ziemlich fest adsorbiert werden. Anschließend kann man mit Aceton einen großen Teil von gelben und blaßgefärbten Begleitsubstanzen eluieren. β -, γ - und δ -Gleison werden zusammen mit weiteren violetten und blauen Verbindungen in einer violetten Zone eluiert, wenn man mit Chloroform nachwäscht. Setzt man dem Chloroform dann 10% Eisessig zu, so läuft auch die blaue Zone des α -Gleisons ins Filtrat.

Für die endgültige Trennung kombinierte ich diese einzelnen Trennmethoden wie es im Schema auf Seite 11 angegeben ist. Zunächst trennte ich die vier Gleisone vom größten Teil der Begleit-Substanzen durch Chromatographie an Gips ab. Bei diesem schonenden Verfahren ist die Wahrscheinlichkeit groß, daß die Begleitsubstanzen keine Umwandlung erleiden. Die vier Gleisone wurden gemeinsam aufgefangen. Bei der anschließenden Chromatographie an Polyamid (System IV) erhielt ich α -Gleison in guter Reinheit. Aus dem verbleibenden Gemisch von β -, γ - und δ -Gleison gewann ich β -Gleison durch Chromatographie im System II. γ - und δ -Gleison trennte ich im System III. Eine letzte Reinigung folgte für jedes Gleison durch Chromatographie an Oxalsäure-Kieselgel (System Nr. I).

Schema der chromatographischen Trennungen



III. Vergleichende Untersuchungen der Gleisone

Alle vier untersuchten Gleisone enthalten etwa 3% CCH_3 und etwa 6% OCH_3 . Legt man einen Gehalt von je einer C-Methyl- und einer Methoxygruppe zugrunde, so ergeben sich aus den Analysenzahlen folgende Summenformeln: α -Gleison $\text{C}_{27}\text{H}_{20-22}\text{O}_{10}$, β -Gleison $\text{C}_{27}\text{H}_{20-22}\text{O}_9$, γ -Gleison $\text{C}_{27}\text{H}_{20-22}\text{O}_{11}$, δ -Gleison $\text{C}_{27}\text{H}_{20-22}\text{O}_{10}$. Alle Gleisone enthalten also übereinstimmend 27 C-Atome, von denen je eins als Methoxy- und als C-Methylgruppe vorliegt, d.h. sie unterscheiden sich lediglich durch ihren Sauerstoffgehalt. Danach vermutete ich, daß die vier Verbindungen trotz ihrer verschiedenartigen Eigenschaften nah verwandt sind.

Einen ersten Hinweis auf die Struktur des Chromophors der Gleisone ergaben die in Chloroform gemessenen Elektronenspektren. Die Absorptionskurve von γ -Gleison (Abbild. 31) ähnelt in ihrem Verlauf im sichtbaren Bereich der des 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinons (5) (Abbild. 33), doch sind die Maxima gegenüber denen von 5 um etwa 20 m μ langwellig verschoben. Eine ähnliche Parallelität besteht zwischen den Absorptionsspektren von δ -Gleison (Abbild. 3) und 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon (4) (Abbild. 3); hier sind die Maxima um ca 6 m μ langwellig verschoben.

Aus den Summenformeln ergibt sich, daß dem um ein Sauerstoffatom reicheren γ -Gleison das Spektrum eines 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinons zukommt, während das um einen Sauerstoff ärmere δ -Gleison im Spektrum dem 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon ähnelt. Danach vermutete ich, daß sich γ -Gleison von δ -Gleison nur durch den Mehrgehalt einer am C-8 des Hydroxy-anthrachinon-Chromophors stehenden Hydroxygruppe unterscheidet. Das chromatographische Verhalten stützt diese Vermutung: Während an basischem Kieselgel die Trennung von γ - und δ -Gleison leicht gelingt, da γ -Gleison eine phenolische Hydroxygruppe mehr enthält und daher stärker adsorbiert wird, gelingt die Trennung in sauren Systemen nicht (System I, II und Tetralin-System). Die gleichen Eigenschaften kann man bei Rhodomycinon- Isorhodomycinon- Paaren beobachten⁶⁾, welche sich als 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon-

bzw. 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinon-Derivate ebenfalls nur um eine Hydroxygruppe unterscheiden.

Die Absorptionsmaxima von α - und β -Gleison in Chloroform (Abbild. 41 und 44) sind nicht so charakteristisch wie bei γ - und δ -Gleison. Die Kurven haben keine Ähnlichkeit mit denen bekannter Hydroxy-anthrachinone, Hydroxy-naphthochinone und Hydroxy-tetracen-chinone⁷⁾.

Daraus ergibt sich eine Einteilung der Gleisone in zwei Gruppen: I. α - und β -Gleison, die tiefblau bzw. violett gefärbt sind, und deren Absorptionskurven keinem der bekannten Hydroxy-anthrachinonspektren ähnlich sind;

II. γ - und δ -Gleison, die karminrot und gelbrod gefärbt sind, und deren Chromophore, wie sich später bestätigte, substituierte Polyhydroxy-anthrachinone sind.

Da ich aus den Absorptionsspektren einen Hinweis auf die Struktur von γ - und δ -Gleison erhalten hatte, entschied ich mich dafür, zunächst diese Substanzen zu untersuchen. Von δ -Gleison besaß ich aus zwei 1000 l-Ansätzen ca. 250 mg kristalliner Substanz, von γ -Gleison nur knapp die Hälfte. Deshalb führte ich die weiteren Untersuchungen hauptsächlich mit δ -Gleison durch.

IV. δ -Gleison

1. Kurze Charakterisierung

δ -Gleison kristallisiert aus Chloroform in braunroten Prismen, die oberhalb 260° unter Zersetzung sintern. In organischen Lösungsmitteln ist es gelbrod gefärbt und zeigt im UV-Licht eine intensiv gelbe Fluoreszenz. In wässrigem Alkalihydroxid löst es sich violett, in konzentrierter Schwefelsäure blau. Eine Bestimmung des aktiven Wasserstoffs war wegen der geringen Löslichkeit in Pyridin nicht möglich. Die Molekulargewichtsbestimmung nach RAST gelang nicht, da die Substanz in Campher unlöslich ist.

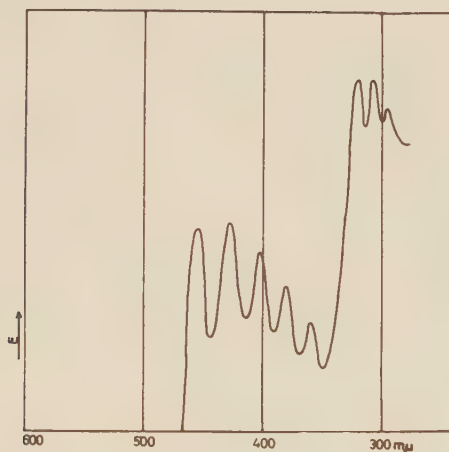
Die Analysenzahlen passen auf $C_{27}H_{20}O_{10}$ (504,5) mit je einer C-Methyl- und Methoxygruppe. Bestätigt wird diese Formel durch das Massenspektrum (Abbild. 19), in welchem zu Beginn der Messung ein Molekülpeak von 504^{+} beobachtet wird.

2. Der Grundkohlenwasserstoff

Um das Kohlenstoffgerüst von δ -Gleison zu ermitteln, führte ich mit 90 mg Substanz eine Zinkstaubdestillation⁸⁾ im Wasserstoffstrom bei beginnender Rotglut durch. Mildere Reduktionsverfahren wie die Zinkstaubreduktion in Pyridin/Eisessig oder in einer Zinkchloridschmelze^{9,10)} führten zu gefärbten Substanzen, die offenbar noch Sauerstoff enthielten. Bei der Zinkstaubdestillation aber erhielt ich ein gelbes Sublimat (18 mg), dessen blaßgelbe Lösung in Benzol intensiv fluoreszierte, wie es für zahlreiche aromatische Kohlenwasserstoffe typisch ist. Beim Chromatographieren an basischem Aluminiumoxid mit Benzol als Laufmittel trennte sich das Sublimat in zwei Hauptzonen. Aus der blaß blaugrün fluoreszierenden Zone mit dem größeren R_F -Wert wurden etwa 9 mg (15% d. Th. bezogen auf $C_{27}H_{20}O_{10}$) einer gelben Substanz gewonnen.

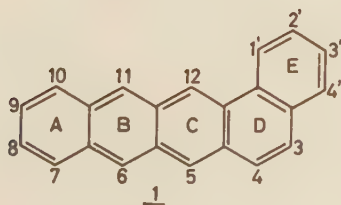
+) Bei der Messung ist zu beachten, daß sich das Molekül thermisch zusetzt. Man erhält den Molekülpeak daher nur zu Beginn der Messung.

Ihr Elektronenspektrum in Benzol (Abbild. 1) erwies sich als nahezu identisch mit dem von 1.2-Benz-tetracen (1) (Isopentaphen)¹¹⁾.



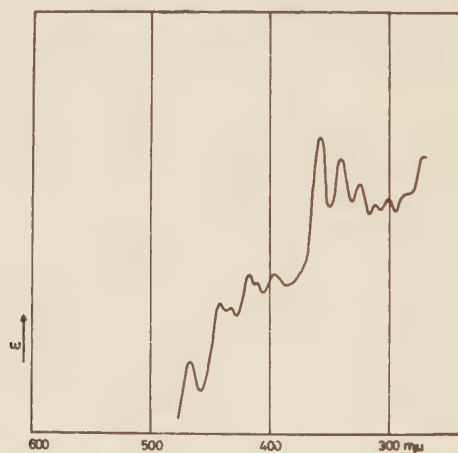
Abbild. 1 Elektronenspektrum von Zone I des Zinkstaubdestillats
in Benzol (λ_{max} 455, 428, 403, 380, 360, 321, 308,
297 mμ)

+)

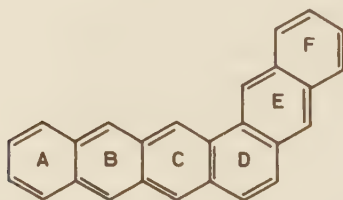


+) Bezifferung nach E. Clar¹¹⁾

Die zweite, leuchtend grün fluoreszierende Zone wurde, da in der Mitte der Zone ein kaum fluoreszierender Anteil wanderte, in zwei Fraktionen aufgefangen. Beide Eluate lieferten die gleiche Absorptionskurve (Abbild. 2). Diese stimmt im Bereich der sieben kurzwelligen Maxima mit dem Spektrum des Hexaphens(2) überein, während die beiden mittleren von den vier langwelligen Maxima gegenüber dem Hexaphenspektrum¹²⁾ eine Schulter zeigen.



Abbild. 2 Elektronenspektrum von Zone II des Zinkstaubdestillats in Benzol ($\lambda_{\max}$ 467, 443, (433), 417, (411), 396, 359, 341, 325, 312, 301, 287 m μ)



Aufgrund dieser Ähnlichkeit nehme ich an, daß der Inhaltsstoff von Zone II des Zinkstaubdestillats ein Alkylhexaphen ist. Auch die Möglichkeit, daß ein Gemisch von Alkylhexaphenen vorliegt, das unter den beschriebenen Bedingungen nicht getrennt werden kann, ist nicht ausgeschlossen. +)

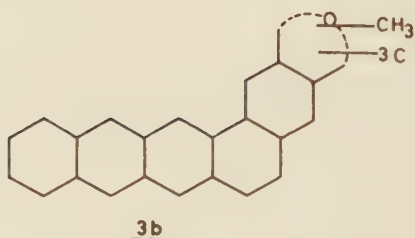
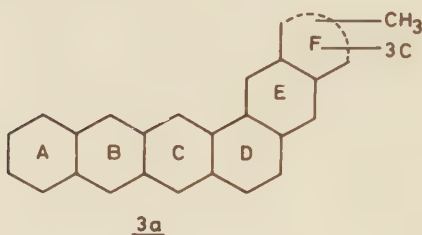
Nach diesen Ergebnissen wäre also der Grundkohlenwasserstoff von δ -Gleison das Isopentaphen.

Daß im δ -Gleison das Kohlenstoffgerüst des Hexaphens ($C_{26}H_{16}$) vorliegt, wird dadurch ausgeschlossen, daß δ -Gleison insgesamt 27 C-Atome enthält, von denen nach Abzug der C-Methyl- und der Methoxygruppe nur 25 für das Kohlenstoffgerüst übrigbleiben. Der Ring F des bei der Zinkstaubdestillation entstehenden Hexaphens muß demnach unter Einbeziehung der C-Methylgruppe entstanden sein. Die Alkylgruppen des Alkylhexaphenproduktes dürften demnach Methylgruppen sein, die einer inter- oder intramolekularen Methylwanderung von der Methoxygruppe aus entstammen.

Für die Anordnung der Substituenten in der 2'- und 3'-Stellung des Isopentaphengerüstes, die bei der Zinkstaubdestillation von δ -Gleison den Ring F des Hexaphens bilden, gibt es mehrere Möglichkeiten. Entweder liegen zwei Seitenketten vor, auf welche sich die vier Kohlenstoffatome einschließlich der

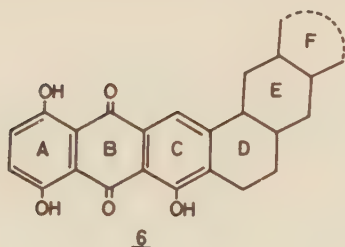
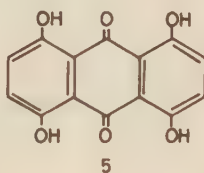
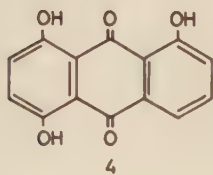
+) Unwahrscheinlich ist dagegen eine Abweichung vom aromatischen Gerüst des Hexaphens. Diese wäre allenfalls für den Ring F denkbar, da die Ringe A - E schon durch die Isolierung eines Isopentaphenderivates als Hauptprodukt eindeutig feststehen. Man könnte hier vielleicht einen Furanring annehmen, der bei der Zinkstaubdestillation nicht reduziert wurde. Daraus sollte sich aber eine stärkere Abweichung des Elektronenspektrums ergeben, als sie tatsächlich beobachtet wird. Auf jeden Fall darf es als sicher gelten, daß den Kohlenstoffatomen 2' und 3' des Ringes E im Isopentaphen ein weiterer Ring mit aromatischem Charakter angegliedert ist.

C-Methylgruppe verteilen (III a), oder die beiden Substituenten sind ringförmig durch eine Sauerstoffbrücke miteinander verbunden (III b), neben welcher die Methylgruppe steht. Damit wäre der bei der Zinkstaubdestillation entstehende Ring F so präformiert, daß man einerseits die relativ gute Ausbeute an Hexaphenprodukt, andererseits die Aufspaltung des Ringes unter Bildung des Isopentaphenderivates als Hauptprodukt gut erklären kann.

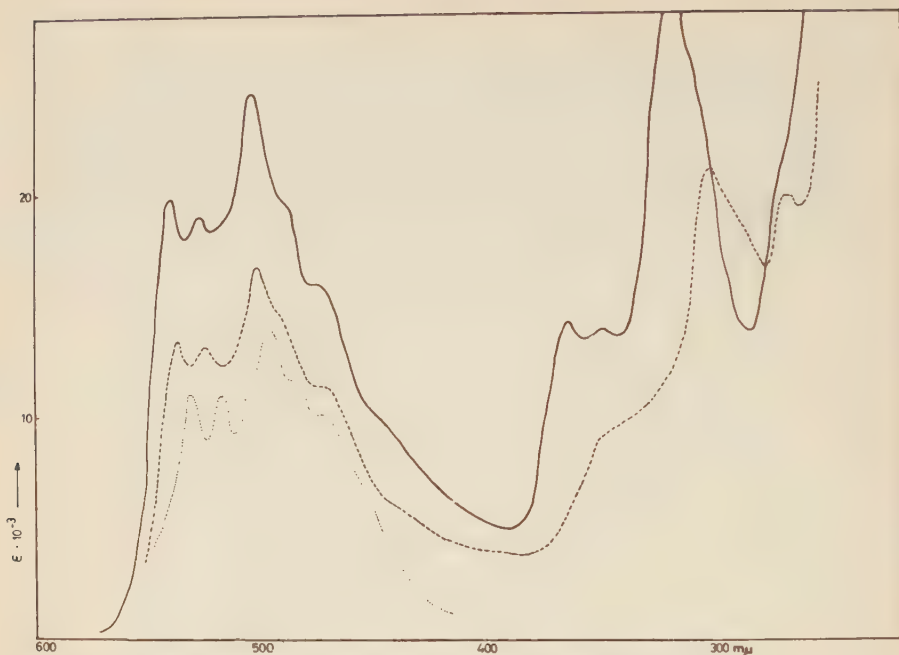


3. Der Chromophor (Ring A-C)

Auf Grund der Absorptionskurve von δ -Gleison nahm ich an, daß das Molekül als Chromophor 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon (4) enthält. Diese Teilstruktur kann man im Isopentaphengerüst nur in den Ringen A - C unterbringen (6); dabei sind vier Stellungen-



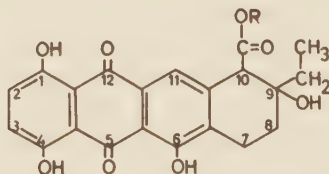
isomere möglich, zwischen denen ich zunächst nicht entscheiden konnte. Die langwellige Verschiebung der Absorptionsbanden um ca. 6 m μ gegenüber dem 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinonspektrum kann nicht durch eine weitere Substitution des 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon-Chromophors durch Hydroxy- oder Methoxygruppen erklärt werden, da diese in den β -Stellungen, die für eine derartige Substitution noch infrage kommen, nur wenig Einfluß auf die Lage der Absorptionsmaxima haben und eher eine geringe hypsochrome Verschiebung bewirken⁷⁾. Alkylsubstituenten können zwar in Anthrachinonderivaten eine bathochrome^{5,13)} Wirkung haben, diese ist aber zu gering um den hier beobachteten Effekt



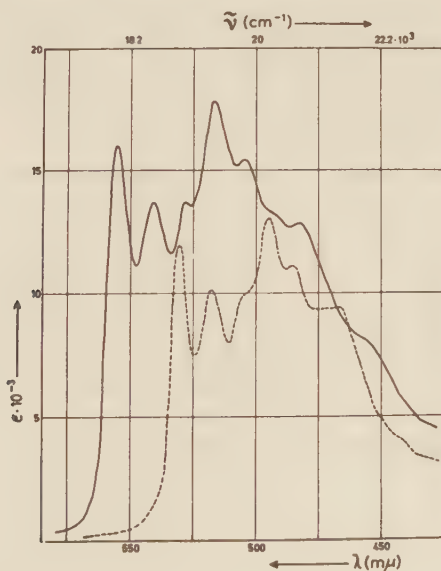
Abbild. 3 Elektronenspektren in Chloroform von

- Anhydro- δ -Gleison ($\lambda_{\max}$ 539, 526, 501 m μ)
 - - - δ -Gleison ($\lambda_{\max}$ 536, 524, 500.5 m μ)
 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon ($\lambda_{\max}$ 530, 517, 495 m μ)

zu erklären. Ein alicyclischer Ring D würde sich auf das Spektrum auswirken wie zwei benachbarte Alkylsubstituenten. Es lägen dann analoge Verhältnisse vor wie z. B. beim ζ -Pyrromycinon⁴⁾ (7), das an einem 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon einen



hydroaromatischen Sechsring in 6.7-Stellung trägt, oder bei den Rhodomycinonen, bei welchen ein hydroaromatischer Sechsring in 2.3-Stellung angegliedert ist⁴⁾. In beiden Verbindungsgruppen geht die Abweichung in der Lage der Absorptionsmaxima gegenüber dem unsubstituierten Chromophor über 2 m μ nicht hinaus. Die im Vergleich zum 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon langwellige Verschiebung der Absorptionsbanden des δ -Gleisons wäre demnach unverständlich, wenn der Ring D rein aliphatisch wäre. Eine Doppelbindung in 2.3-Stellung des Ringes D würde das Spektrum ebenfalls nicht wesentlich verändern, dagegen würde sie in Konjugation zum Chromophor, also in 1.2- oder 3.4-Stellung eine bathochrome Verschiebung von etwa 20-40 m μ bewirken (Abbild. 4), wie J. Niemeyer an Anhydro-rhodomycinonen zeigen konnte⁶⁾.

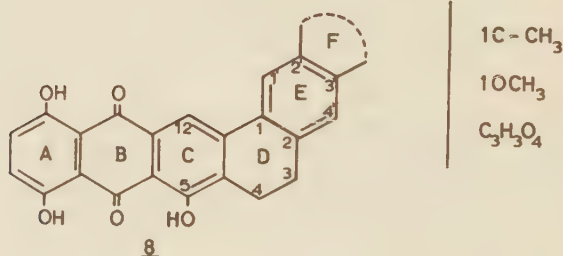


Abbild. 4 Elektronenspektren in Cyclohexan von

- 1.6.11-Trihydroxy-8-äthyl-9.10-dihydro-tetracen-
chinon-(5.12) ($\lambda_{\max}$ 556, 541, 529, 517, 505, 482 m μ)
- 1.6.11-Trihydroxy-8-äthyl-7.10-dihydro-tetracen-
chinon-(5.12) ($\lambda_{\max}$ 531, 518, 505, 495, 486, 467 m μ)

Bei aromatischer Struktur des Ringes D wäre δ -Gleison Tetracenchinonderivat. Diese Möglichkeit kann aber sicher dadurch ausgeschlossen werden, daß sich die infrage kommenden Modellsubstanzen 1.4.6- und 1.6.11-Trihydroxy-tetracenchinon in Lage und Extinktion der Absorptionsmaxima weitgehend von δ -Gleison unterscheiden^{5,15)}.

Dagegen wäre der Befund, daß die langwelligen Maxima von δ -Gleison um 6 m μ längerwellig liegen als beim 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon, gut verständlich, wenn man annimmt, daß Ring D an der C-3- C-4-Bindung gesättigt und Ring E aromatisch ist, da die Konjugation über Diphenylbrücken gering ist und in diesem Fall noch dadurch behindert wird, daß die C-3- C-4-Dimethylenbrücke eine ebene Einstellung der aromatischen Systeme unmöglich macht. δ -Gleison enthielte demnach ein 3.4-Dihydro-trihydroxy-isopentaphenchinon-(6.11) (8). Diese Struktur steht auch gut mit der Summenformel in Einklang, deren hohes C/H-Verhältnis 27/20 bei zwei Methylgruppen darauf hindeutet, daß die Verbindung weitgehend aromatisch ist.



Mit der Ermittlung des Chromophors sind bisher 5 von den 10 Sauerstofffunktionen festgelegt. Ein weiteres Sauerstoffatom ist in der Methoxygruppe enthalten.

Beim Versuch, die Methoxygruppe durch Kochen mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig abzuspalten, erhielt ich eine kristallisierte rote Verbindung, die beim Chromatographieren so-

wohl an saurem wie an basischem Kieselgel größere R_F -Werte hatte als die Ausgangsverbindung. Die Analyse zeigte einen nahezu unveränderten Methoxygehalt, paßte aber gut auf die um ein Molekül Wasser ärmere Summenformel $C_{27}H_{18}O_9$. Statt der Entmethylierung war also eine säurekatalysierte Wasserabspaltung eingetreten. Dementsprechend bezeichnete ich das neue Derivat als Anhydro- δ -Gleison. δ -Gleison enthält demnach eine durch Säure als Wasser eliminierbare Hydroxygruppe.

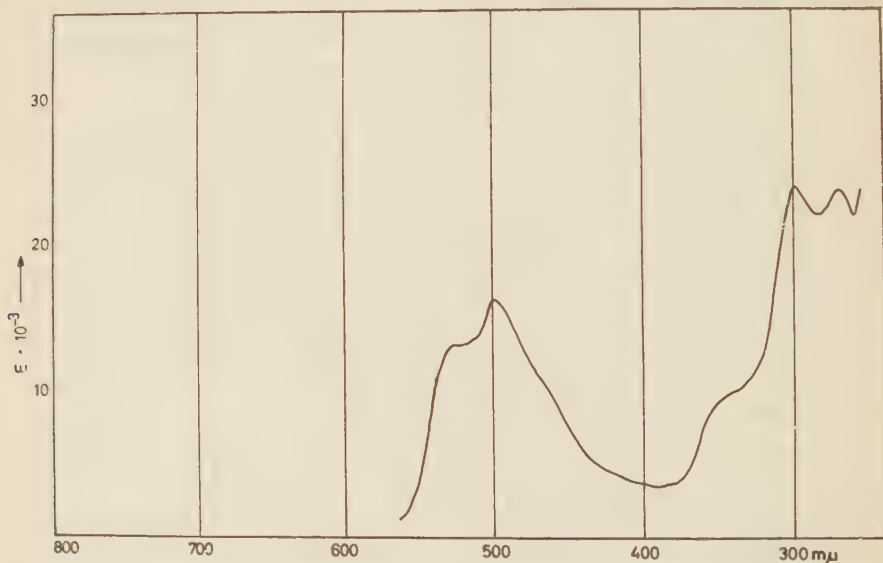
Auch Anhydro- δ -Gleison hat im sichtbaren Bereich eine Absorptionskurve, die der des 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinons ähnlich ist, wenn auch die Extinktion von 17 000 ($\lambda_{\max}$ 500.5 μ) auf 23 000 ($\lambda_{\max}$ 501 μ) erhöht ist und die langwelligen Maxima um weitere 3 μ bathochrom verschoben sind. Die neue Doppelbindung, die sich im IR-Spektrum (Abbild. 15, 17a) durch eine Bande bei 1648/cm zu erkennen gibt, muß demnach in Konjugation zum Chromophor stehen, ist jedoch nicht in den Ring D eingetreten; denn die daraus folgende Aromatisierung von D müßte eine wesentlich stärkere Veränderung der Absorptionskurve zur Folge haben. Demnach ist die aliphatisch gebundene Hydroxygruppe im noch unbekannten Teil des Moleküls zu suchen.

Mit Pyridin/Acetanhydrid bei 20° erhielt ich aus δ -Gleison ein gelbes, kristallisiertes Tetraacetat; da die gleiche Verbindung auch aus Anhydro- δ -Gleison entsteht, ist es sicher, daß hier das Anhydro- δ -gleison-tetraacetat vorliegt. Die aliphatische Hydroxygruppe wird also auch unter sehr milden Bedingungen abgespalten und ist demnach wahrscheinlich tertiär.

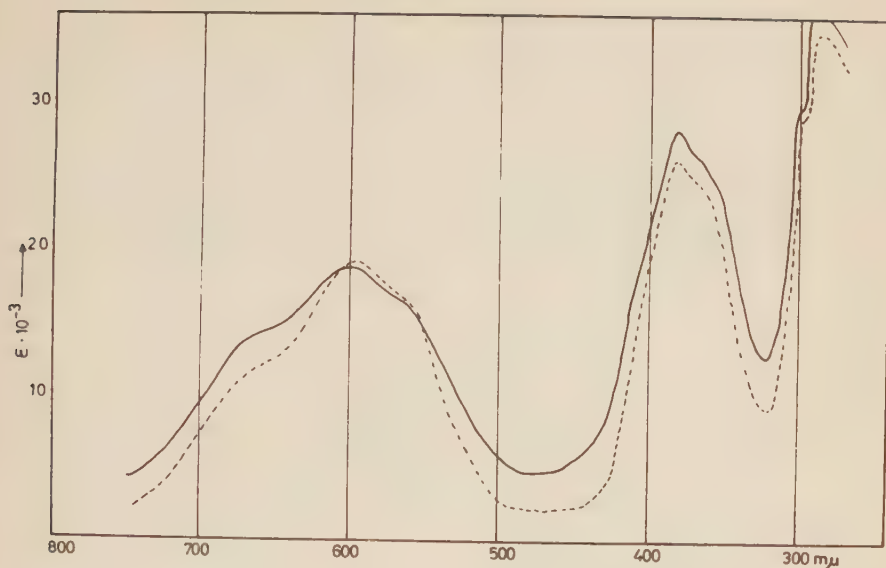
Die durch die Bildung eines Tetraacetates festgestellte vierte acetylierbare Hydroxygruppe könnte an Ring E stehen oder als β -Hydroxygruppe an Ring A. Die Absorptionskurven geben hierüber keine sichere Auskunft, da man einerseits die Stellung der Methoxygruppe und ihren Einfluß auf das Spektrum noch nicht kennt und andererseits auch der Einfluß einer β -Hydroxygruppe in einem so stark verschobenen 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon-spektrum nicht mehr gut abzuschätzen ist.

Der Versuch, die Methoxygruppe mit Bromwasserstoffsäure in Eisessig unter schärferen Bedingungen zu hydrolysieren, indem

man das darin enthaltene Wasser teilweise durch Acetanhydrid entfernte, führte zu Zersetzungsprodukten. Ebenso versagten die Methoden mit Jodwasserstoffsäure und Bortribromid: Ich erhielt entweder nur das Dehydratisierungsprodukt oder aber schwer trennbare Gemische. Zum Erfolg führte schließlich die relativ milde Reaktion mit Aluminiumbromid in Chlorbenzol bei 50° , welches ich wegen seines besseren Lösungsvermögens dem Benzol vorzog. Dabei erhielt ich eine methoxylfreie, kristallisierte, dunkelrote Verbindung $C_{26}H_{18}O_{10}$, die sich aus Chloroform mit wässrigem Natriumhydrogencarbonat mit blauer Farbe ausschütteln ließ. Aus dem Massenspektrum des entmethylierten δ -Gleisons (Abbild. 20) geht hervor, daß das Molekül außer der Ätherspaltung keine Veränderung erlitten hat, denn das Fragmentierungsschema ist beim Entmethylierungsprodukt das gleiche wie beim δ -Gleison (Abbild. 19), nur liegen die Peaks um 14 Masseneinheiten niedriger. Obwohl der bei der Reaktion entstehende



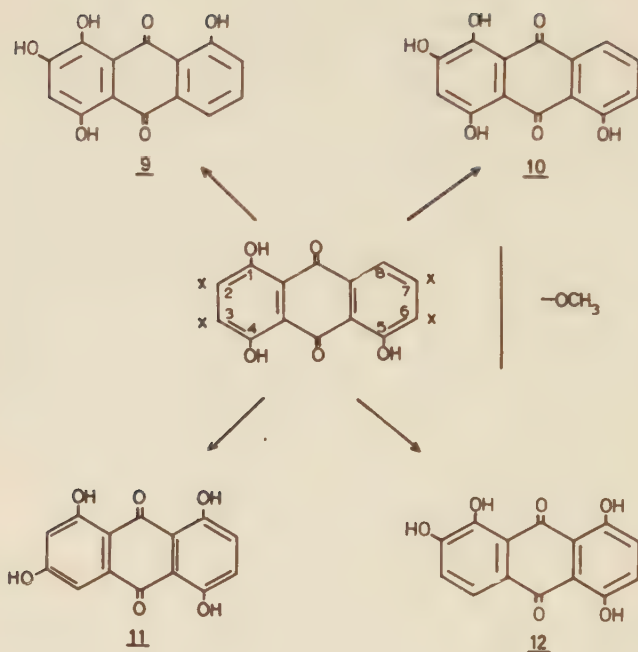
Abbild. 5 Elektronenspektrum des entmethylierten δ -Gleisons in Chloroform (λ_{max} 526, 500, 300 $m\mu$)



Abbild. 6 Elektronenspektren in konz. Schwefelsäure
 ----- entmethyliertes δ -Gleison (600, 482 m μ)
 ————— Anhydro- δ -Gleison ($\lambda_{\max}$ 602, 483 m μ)

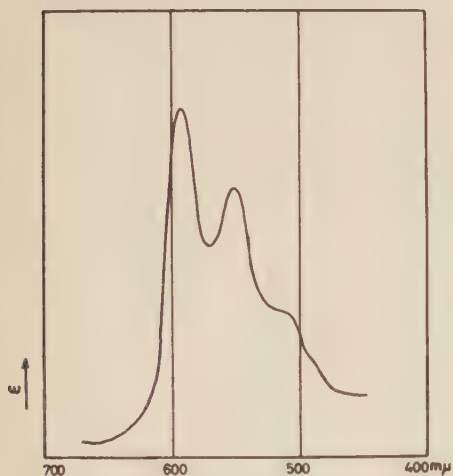
Aluminiumkomplex bei der Aufarbeitung mit Säure hydrolytisch gespalten wird, erfolgt also offenbar keine Wasserabspaltung, da die frei werdende Verbindung sofort ausfällt. Die erhöhte Acidität des entmethylierten δ -Gleison spricht dafür, daß bei der Entmethylierung eine uncheliierte phenolische Hydroxygruppe frei wird.

Im Absorptionsspektrum des Entmethylierungsproduktes von δ -Gleison (Abbild. 5) in Chloroform sind die Banden gegenüber δ -Gleison etwas hypsochrom verschoben sowie weniger scharf ausgeprägt, sodaß anstelle der beiden langwelligen Maxima des δ -Gleisons (Abbild. 3) hier nur noch ein Maximum beobachtet wird. Da β -Hydroxygruppen an Polyhydroxy-anthrachinonen einen derartigen Einfluß auf die Absorptionsspektren haben können⁷⁾, kann man annehmen, daß das Entmethylierungsprodukt von δ -Gleison

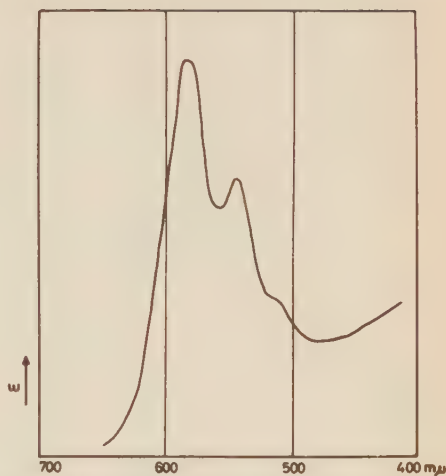


einen der Chromophore 9 - 12 besitzt. Die Absorptionskurven dieser Modellverbindungen in Chloroform sind einander ähnlich; mit der des entmethylierten δ -Gleisons stimmt am besten die des 1.2.4.5-Tetrahydroxy-anthrachinons (10) überein. Auch die Absorptionskurve des Entmethylierungsproduktes (Abbild. 8) in wässrigem Alkalihydroxid gleicht abgesehen von einer bathochromen Verschiebung der Maxima um 15 m μ der von 10 (Abbild. 12), jedoch hat auch 12 ein ähnliches Spektrum (Abbild. 13), sodaß nur 9 und 11 aufgrund der in Alkalihydroxid stark abweichenden Spektren (Abbild. 9, 11) als Chromophore des entmethylierten δ -Gleisons ausscheiden. Eine Entscheidung zwischen den ver-

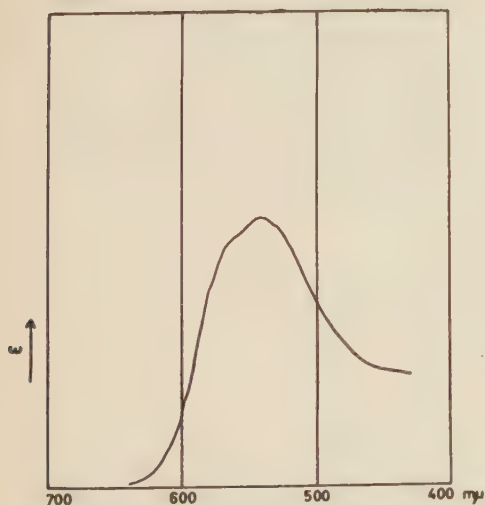
Elektronenspektren in 2 n NaOH ⁺)



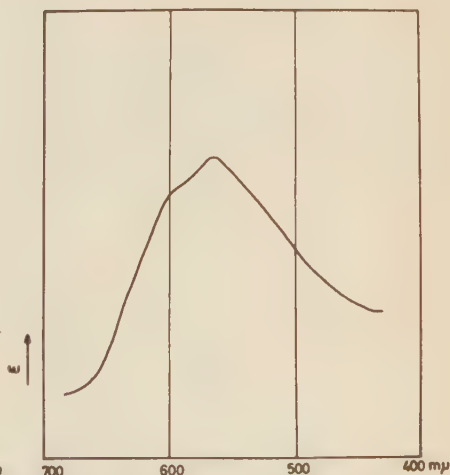
Abbild. 7 δ -Gleison
($\lambda_{\max}$ 591, 547 mμ)



Abbild. 8 Entmethyliertes
 δ -Gleison ($\lambda_{\max}$ 586, 543 mμ)



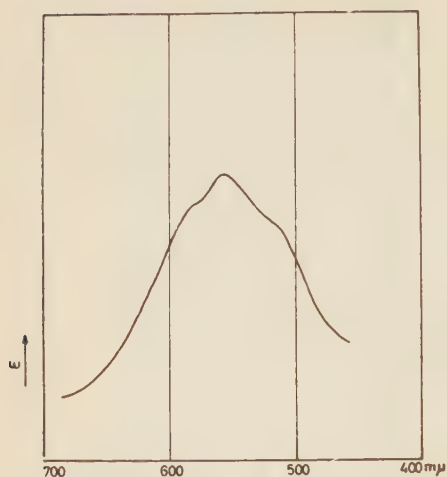
Abbild. 9 1.2.4.8-Tetra-
hydroxy-anthrachinon
($\lambda_{\max}$ 542 mμ)



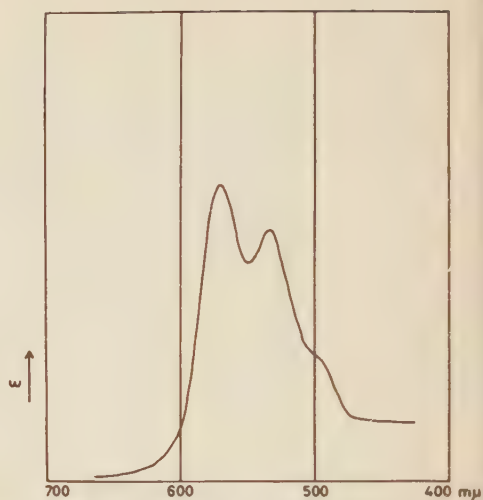
Abbild. 10 1.4.5-Trihydroxy-
anthrachinon ($\lambda_{\max}$ 565 mμ)

⁺) Keine Extinktionsangabe, da die Substanzen sich in NaOH sehr rasch zersetzen.

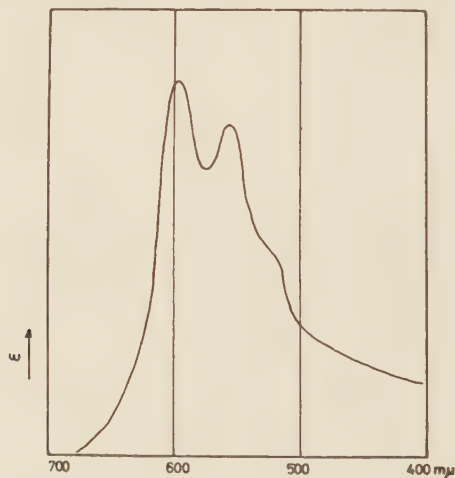
Elektronenspektren in 2 n NaOH⁺)



Abbild. 11 1.3.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinon ($\lambda_{\max}$ 555 mμ)



Abbild. 12 1.2.4.5-Tetrahydroxy-anthrachinon ($\lambda_{\max}$ 571, 533 mμ)



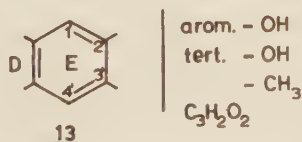
Abbild. 13 1.2.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinon ($\lambda_{\max}$ 598, 555 mμ)

⁺) s. Anm. Auf S. 27

bleibenden Chromophorformeln 10 und 12 durch elektronenspektroskopische Vergleiche war dagegen nicht mit Sicherheit möglich. Der Befund, daß δ -Gleison selbst in Alkalihydroxid eine Absorptionskurve hat, die sich von der des Entmethylierungsproduktes nur durch eine bathochrome Verschiebung um 6 m μ unterscheidet könnte man damit erklären, daß die β -Methoxygruppe in Alkalihydroxid einen ähnlichen Einfluß auf die Kurve hat wie eine Hydroxygruppe in gleicher Position. Man kann jedoch nicht mit Sicherheit ausschließen, daß die Tetrahydroxy-anthrachinon-Struktur bereits vor der Entmethylierung vorliegt; die Position der Methoxygruppe wäre dann wahrscheinlich in Ring E zu suchen. Man kann also vorerst nur sicher schließen, daß das entmethylierte δ -Gleison einen 1.2.5.8- oder 1.2.4.5-Tetrahydroxy-anthrachinon-Chromophor sowie eine weitere acetylierbare Hydroxygruppe wahrscheinlich am aromatischen Ring E besitzt. Die Methoxygruppe im δ -Gleison kann am Ring E oder in einer der beiden β -Stellungen des Ringes A stehen.

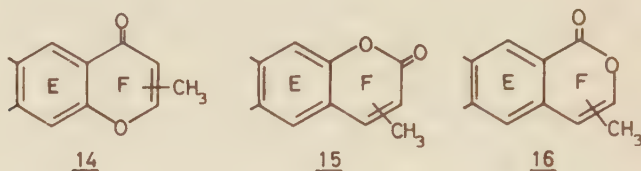
4. Struktur der Ringe E und F

Der nach Formel 8 noch unbekannte Molekülteil, der den Ring F des bei der Zinkstaubdestillation entstehenden Hexaphenderivates bildet, enthält vermutlich die C-Methylgruppe, die als tertiär angenommene Hydroxygruppe sowie den Rest $C_3H_2O_2$ (13).



Er enthält damit 4 Wasserstoffatome weniger als für zwei gesättigte Substituenten zu erwarten wäre. Man kann daher annehmen, daß die Substituenten einen Sauerstoff enthaltenden Ring bilden, der als ungesättigte Gruppierung wahrscheinlich eine Carbonylgruppe enthält. Daraus ergeben sich Dihydro-pyron-Strukturen,

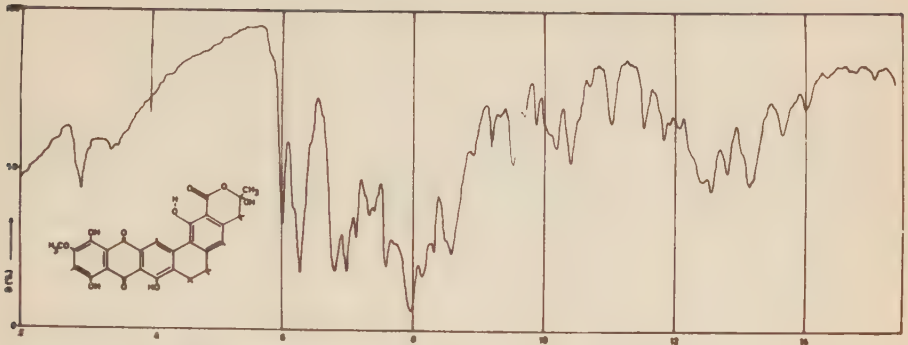
die nach Wasserabspaltung in die entsprechenden Pyrone übergehen. Für die Ringe E und F des Anhydro- δ -gleisons wären danach die Strukturen eines Methyl-chromons, Methyl-cumarins oder Methyl-isocumarins möglich.



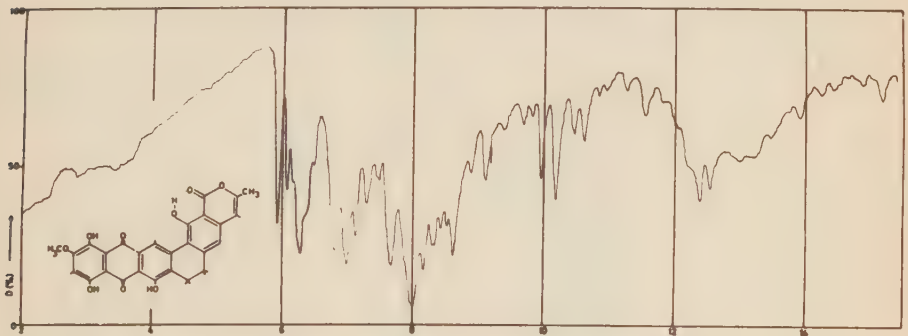
Im Carbonylbereich des IR-Spektrums von δ -Gleison (Abbild. 14, 17 b) findet man dementsprechend außer der für cheliertes Chinoncarbonyl erwarteten Bande bei 1590/cm eine weitere starke Absorption bei 1660/cm. Im Spektrum von Anhydro- δ -gleison ist diese Bande nach 1685/cm verschoben, und im Anhydro- δ -gleison-tetraacetat findet man abgesehen von der Bande des Acetylcarbonyls (1785/cm) eine Bande bei 1735/cm, die im Spektrum der nicht acetylierten Verbindungen fehlt. Demnach enthält δ -Gleison eine chelierte Carbonylgruppe, deren Absorption mit 1660/cm richtig liegt für einen o-Hydroxy-aryl-carbonsäureester¹⁶⁾. Die nach der Wasserabspaltung beobachtete erhöhte Wellenzahl der Ester-carbonylfrequenz spricht dafür, daß sich durch Wasserabspaltung ein Vinylester¹⁶⁾ gebildet hat. Dagegen scheidet eine zur Carbonylgruppe konjugierte Doppelbindung aus, da sie die Absorption nach niedrigeren Wellenzahlen verschieben würde. Das Acetat hat mit 1735/cm den für einen unchelierten Vinyl-benzoesäureester erwarteten Wert.

Aufgrund dieser Befunde kann man für die Ringe E - F im Anhydro- δ -gleison die anfangs infrage kommenden Chromon- und Cumarinstrukturen 14 und 15 ausschließen und die Struktur eines 8-Hydroxy-3-methyl-isocumarins vorschlagen.

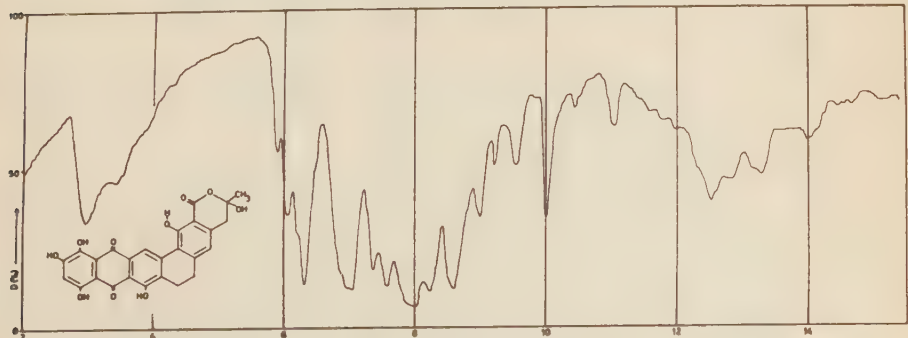
Für δ -Gleison selbst ergibt sich daraus die Teilstruktur 18, welche die leichte Abspaltbarkeit der Hydroxygruppe erklärt.



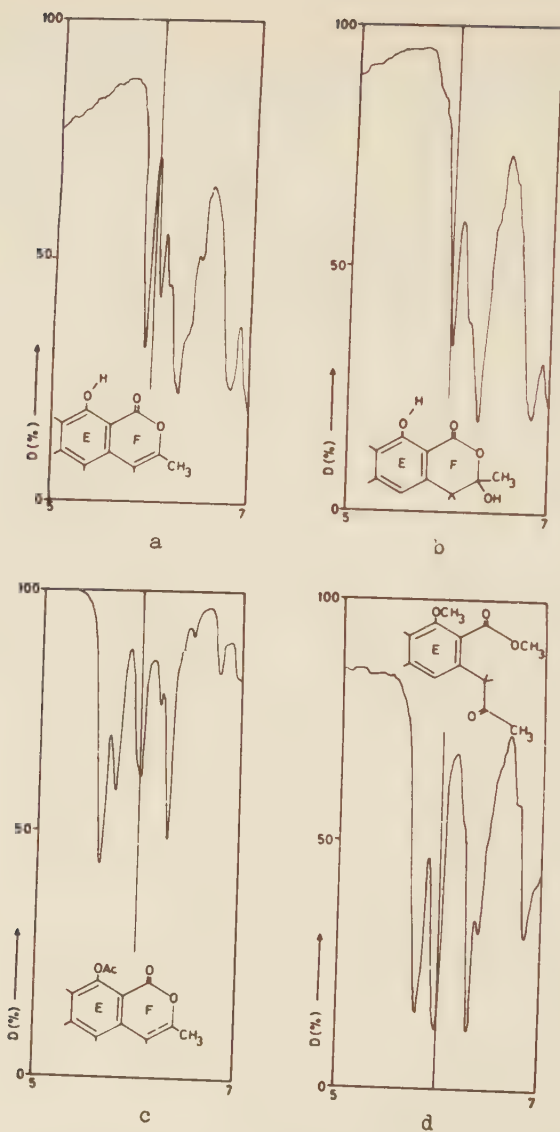
Abbild. 14 IR-Spektrum von δ -Gleison in KBr



Abbild. 15 IR-Spektrum von Anhydro- δ -gleison in KBr

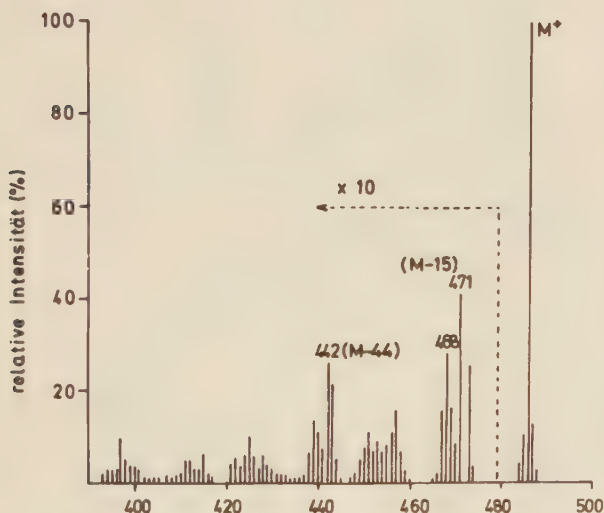
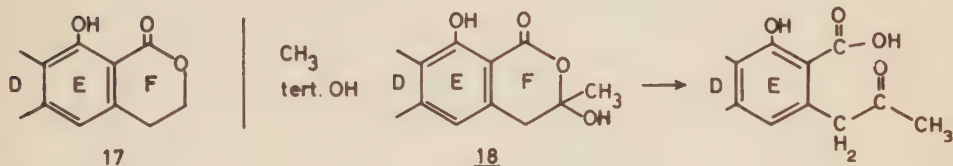


Abbild. 16 IR-Spektrum vom entmethylierten δ -Gleison in KBr



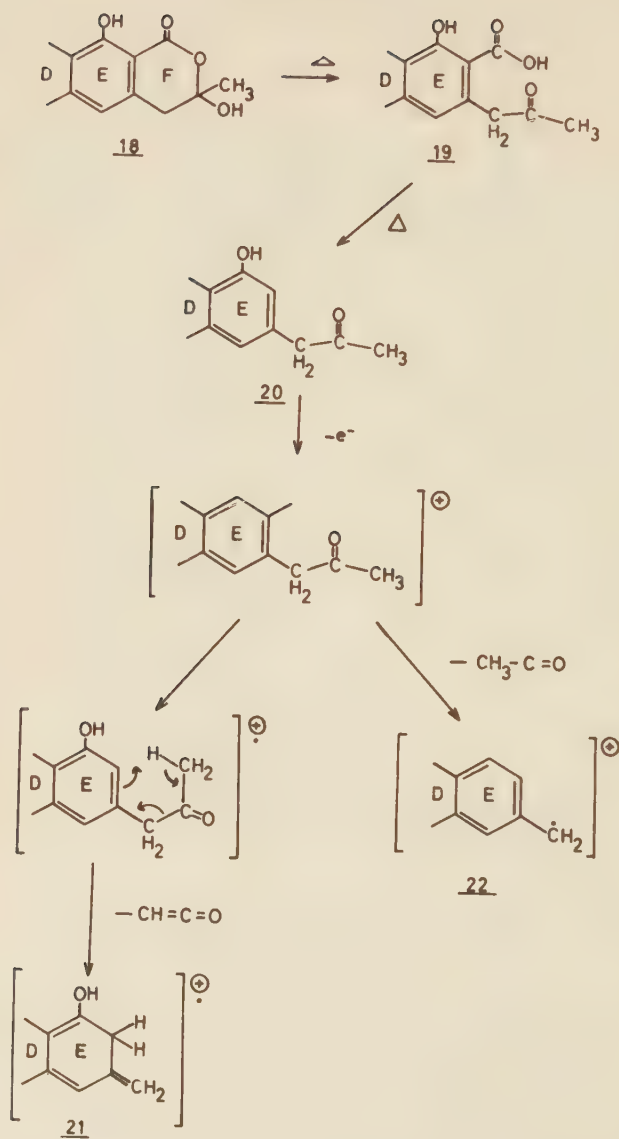
Abbild. 17 Carbonylbereich der IR-Spektren in Chloroform von a Anhydro- δ -gleison, b δ -Gleison, c Anhydro- δ -gleison-tetraacetat, d δ -Gleison- Methylierungsprodukt

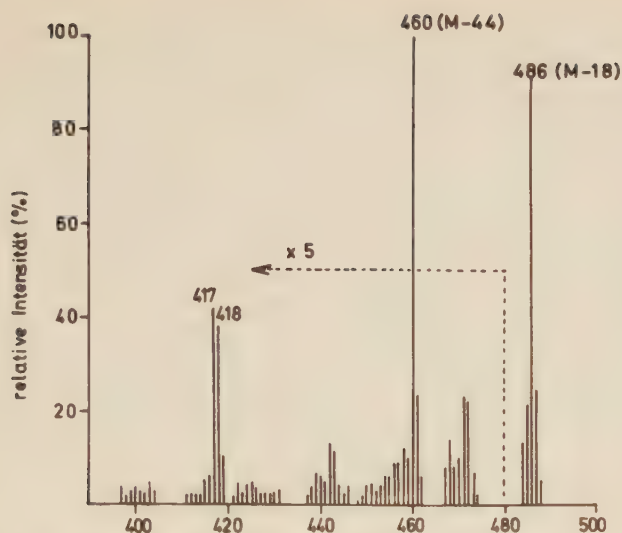
Die in dieser Formel maskiert enthaltene Methylketonstruktur wird durch eine positive Jodoformreaktion bestätigt.



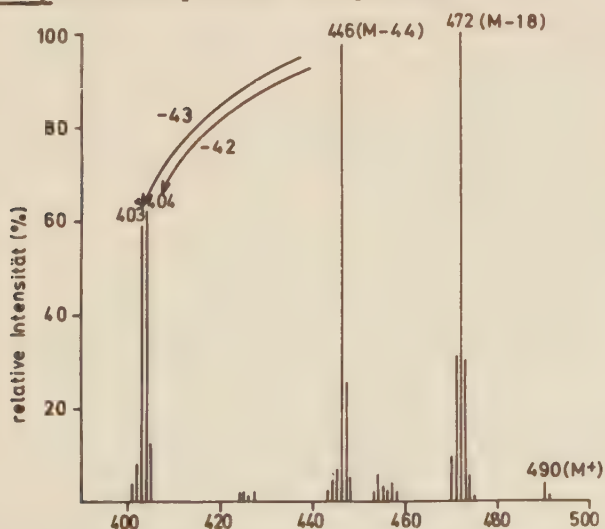
Abbild. 18 Massenspektrum von Anhydro- δ -gleison

Im Massenspektrum von Anhydro- δ -gleison findet man keine charakteristischen Bruchstücke, da das Molekül weitgehend aromatisch aufgebaut und damit besonders stabil ist. Beim δ -Gleison selbst besitzt der Ring F dagegen keine Doppelbindung und wird daher leicht aufgespalten. Nach einem nur kurzen Auftreten des Molekülpeaks erhält man ein stabiles Spektrum, das offenbar die





Abbild. 19 Massenspektrum von δ -Gleison

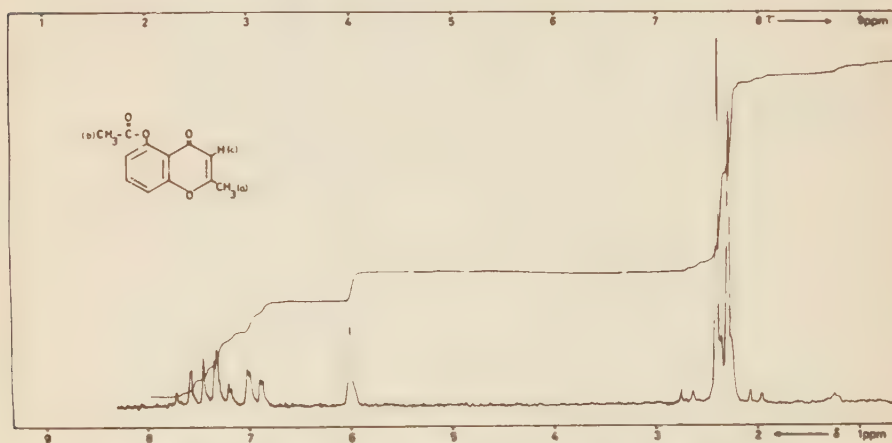


Abbild. 20 Massenspektrum vom entmethylierten δ -Gleison

Folge von zwei thermischen Abbaureaktionen ist. Es zeigt einerseits den Molekülpeak des Anhydroproduktes, welches, wie oben

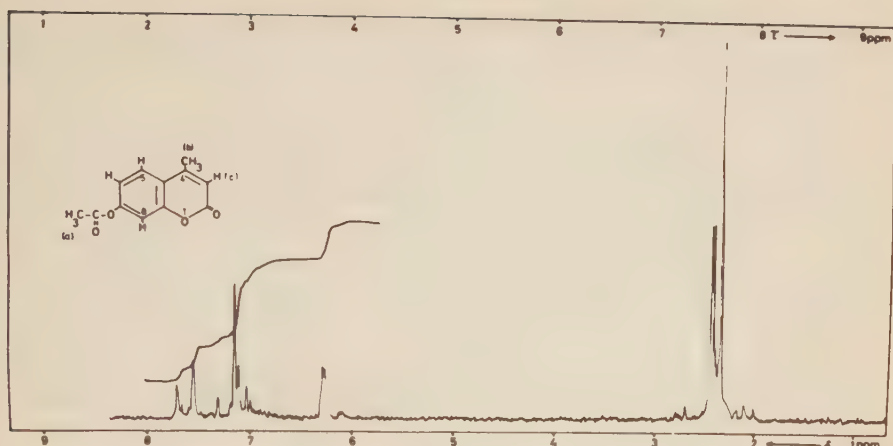
beschrieben, keine weiteren Fragmente liefert, und andererseits eine Reihe von Fragmenten, die aus dem Decarboxylierungsprodukt (20) der offenen Keto-carbonsäure-Form (19) hervorgehen. Erst nach diesem offenbar thermischen Verlust von CO_2 (44) wird die Acetylgruppe abgespalten oder aus dieser Keten. Die Abspaltung des Acetylrestes ist nach Formel 20 zu erwarten, da er in Benzylstellung steht. Die Ketenabsplaltung könnte man mit einer Umlagerung nach Art einer McLafferty-Umlagerung¹⁷⁾ erklären.

Das Massenspektrum des δ -Gleison-Entmethylierungsproduktes zeigt die gleiche Fragmentierung, wobei die Peaks jeweils um die 14 Einheiten der fehlenden Methylgruppe niedriger liegen, und bestätigt damit ebenfalls den Strukturvorschlag (Abbild. 20).



Abbild. 21 NMR-Spektrum von 5-Acetoxy-2-methyl-chromon in CDCl_3

Die geringe Löslichkeit von δ -Gleison in Chloroform, Pyridin und Aceton verhinderte eine Messung des NMR-Spektrums und damit eine einfache Bestätigung der bisherigen Ergebnisse. Ein brauchbares Spektrum erhielt ich vom in Chloroform ausreichend löslichen Anhydro- δ -gleison-tetraacetat (Abbild. 26). Es bestätigt jedoch nur die Anwesenheit einer Methyl-vinyl-Gruppierung im Ring F vom Anhydro- δ -gleison-tetraacetat: eine drei Protonen entsprechende Bande bei $\delta = 2.24$ ppm für die C-Methyl-Gruppe,



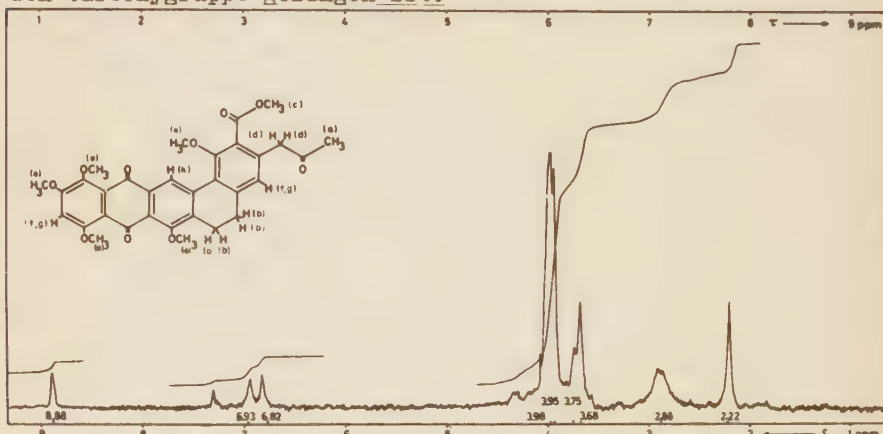
Abbild. 22 NMR-Spektrum von 7-Acetoxy-4-methyl-cumarin in CDCl_3

die mit einer Bande bei $\delta = 6.20$ ppm koppelt, die einem Vinylproton entspricht (Kopplungskonstante J ca. 1 Hz). Die zum Vergleich abgebildeten NMR-Spektren von 7-Acetoxy-4-methyl-cumarin (Abbild. 22) und 5-Acetoxy-2-methyl-chromon zeigen etwa die gleiche Lage der Protonensignale von Methyl-vinyl-Gruppen. Weitere Rückschlüsse auf die Struktur des Ringes F läßt das NMR-Spektrum des Anhydro- δ -gleison-tetraacetates nicht zu.

Um die für die Ringe E und F vorgeschlagene Struktur zu bestätigen, mußte man ein Derivat des δ -Gleisons finden, dessen Löslichkeit für die Messung eines NMR-Spektrums ausreicht, und in welchem der Ring F unverändert ist oder aber sichere Rückschlüsse auf die Struktur des Ringes F in δ -Gleison erlaubt. Ein solches Derivat erhielt ich durch Methylierung mit Dimethylsulfat in Aceton/Kaliumcarbonat. Zuvor wurde der Ring F mit verdünnter alkoholischer Natronlauge hydrolytisch geöffnet, so daß mit einer anschließenden Methylierung der freiwerdenden Carboxygruppe gerechnet werden konnte. Dabei waren von den vier zunächst noch in Betracht kommenden Strukturen des Ringes F in δ -Gleison (23, 26, 28 und 18) ausgehend, die sich nur durch die Stellung der Hydroxy- und der Methylgruppe an C-3 oder C-4

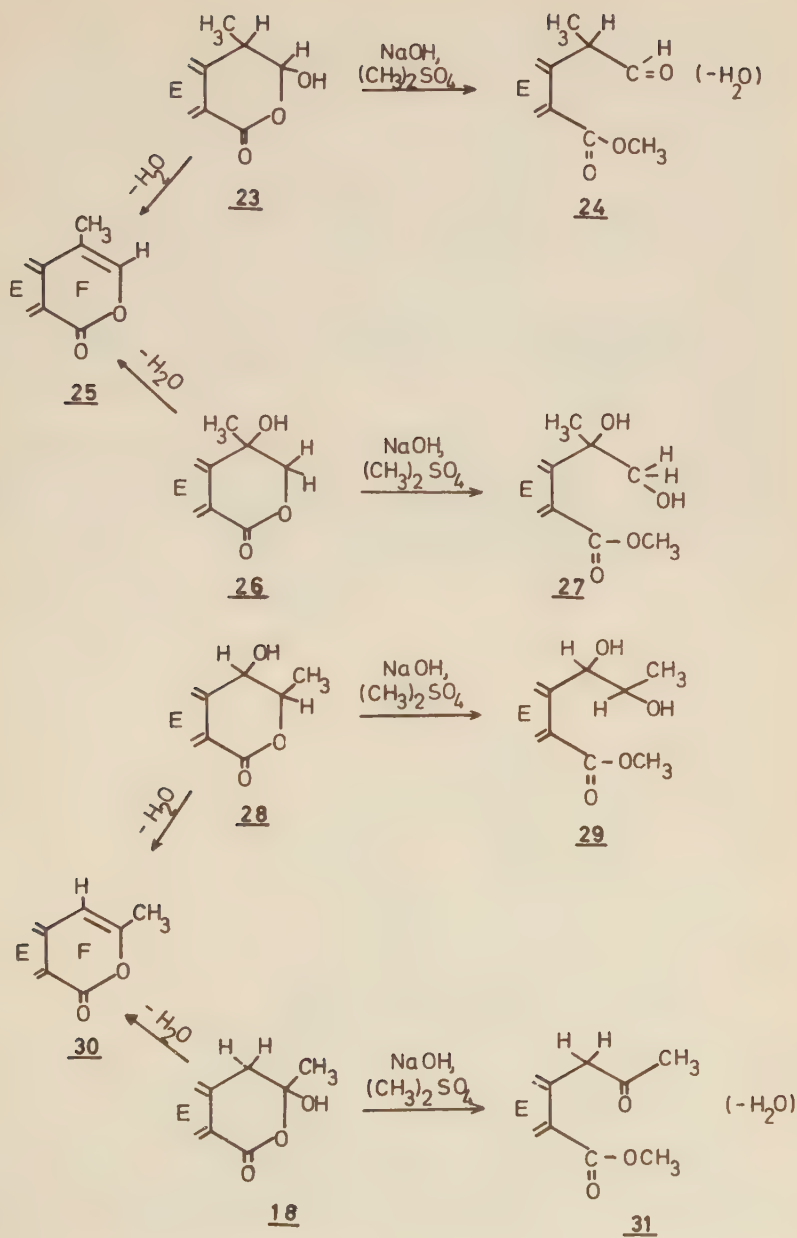
unterscheiden, die vier Formeln 24, 27, 29 und 31 für das Methylierungsprodukt möglich, zwischen denen leicht zu unterscheiden sein sollte.

Bei der Methylierung von δ -Gleison erhielt ich nach Abtrennung von unvollständig methylierten Anteilen ein kristallines, gelbes Produkt. Aus dem Massenspektrum (Abbild. 24) entnimmt man das Molekulargewicht von 574. Die Verbindung enthält also einschließlich der ursprünglich vorhandenen insgesamt 6 Methoxygruppen. 5 davon findet man im NMR-Spektrum (Abbild. 23) in einer 15 Protonen entsprechenden Absorption bei $\delta = 4.0$ ppm, während das Signal der sechsten bei 3.69 liegt und damit wahrscheinlich der Methoxycarbonyl-Gruppe zuzuordnen ist. Aus der Zahl der Methoxygruppen geht hervor, daß alle phenolischen Hydroxygruppen verestert sind, und daß außerdem die Lactonringspaltung und die anschließende Methylierung der freiwerdenden Carboxygruppe gelungen ist.



Abbild. 23 NMR-Spektrum des δ -Gleison-Methylierungsproduktes in CDCl_3

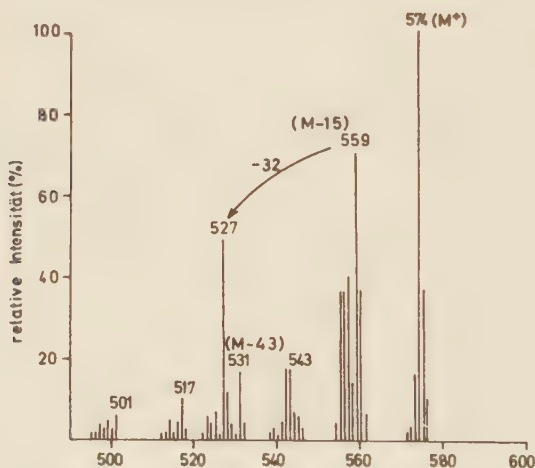
Das Signal der C-Methylgruppe bei $\delta = 2.22$ ppm ist nicht aufgespalten; d.h.: Das benachbarte Kohlenstoffatom trägt keinen Wasserstoff. Damit scheiden Formel 24 und 29 für das Methylierungsprodukt aus und damit Formel 23 und 28 für Ring F des



δ-Gleisons. Die Entscheidung zwischen 27 und 31 fällt zugunsten von 31 aufgrund folgender Befunde:

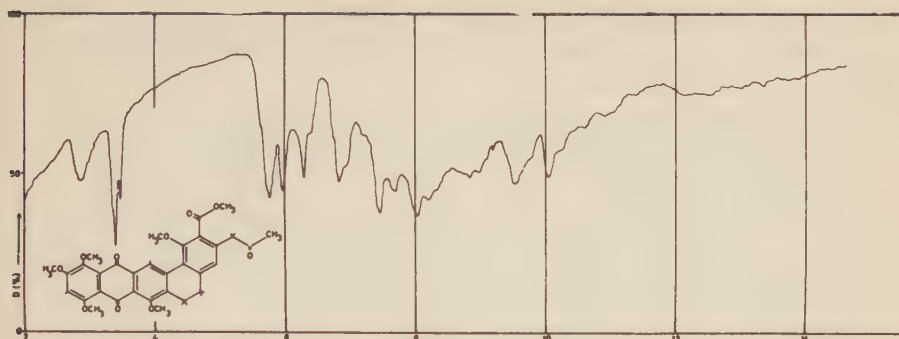
1. Es ist keine Absorption einer Hydroxygruppe vorhanden.
2. Bei $\delta = 3.75$ ppm findet man ein Signal von zwei gleichwertigen Protonen, deren Lage der von Benzylprotonen in der Nachbarschaft einer Ketogruppe entspricht.
3. Das aus dem Massenspektrum gewonnene Molekulargewicht paßt nur auf die um ein Wasser ärmere Verbindung 31.
4. Außerdem findet man im Massenspektrum (Abbild. 24) neben einer Abspaltung von Methyl (15), Methoxyl (31) und Methanol (32) einen Peak bei 531 (M-43), der für ein Fragment der Formel CH_3CO spricht. Diese Spaltreaktion kann nur aus Struktur 31 erfolgen.

Wie erwartet, fehlt im NMR-Spektrum des Methylierungsproduktes im Gegensatz zu dem des Anhydro-δ-gleison-tetraacetates die Absorption des Vinylprotons und die schwache Aufspaltung des Signals für die Methylgruppe.



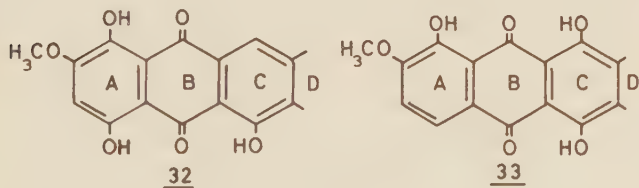
Abbild. 24 Massenspektrum des Methylierungsproduktes von δ-Gleison

Mit der Feststellung, daß die Ringe E und F von Anhydro-δ-gleison die Struktur eines 8-Hydroxy-3-methyl-isocumarins



Abbild. 25 IR-Spektrum des δ -Gleison-Methylierungsproduktes in KBr

besitzen, ist bewiesen, daß die vierte phenolische Hydroxygruppe zu Ring E gehört. Danach kann die Methoxygruppe nur an einer der beiden β -Stellungen von Ring A haften (vergl. S.29). Für die Struktur des Chromophors war also noch zwischen 32 und 33 zu unterscheiden.

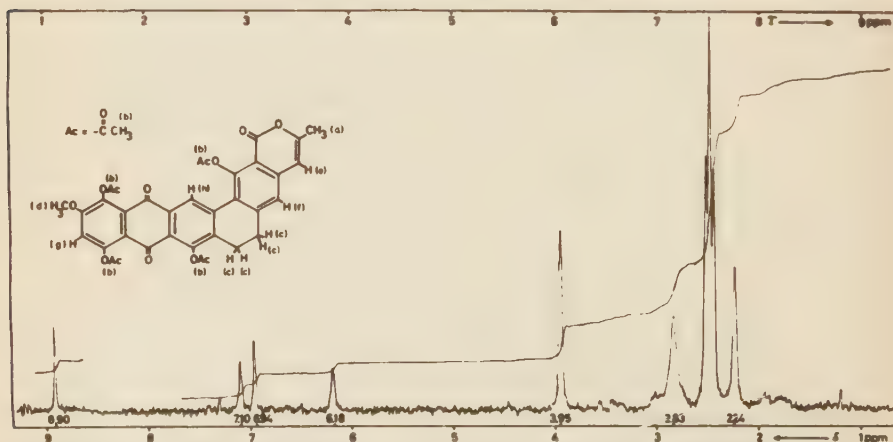


Das NMR-Spektrum des Anhydro- δ -gleison-tetraacetates (Abbild. 26) zeigt drei scharfe Signale bei 6.94, 7.10 und 8.90 ppm, die, bezogen auf die Höhe des Integrals der Absorption der Methoxygruppe bei $\delta = 3.94$ ppm (d), je einem aromatisch gebundenen Proton (f,g,h) zukommen. Da sie keine Aufspaltung zeigen, können keine zwei zueinander orthoständigen, aromatischen Protonen vor-

liegen. Von den beiden möglichen Strukturen kann daher nur 32 richtig sein, in welcher je ein aromatisches Proton an Ring A, C und E haftet.

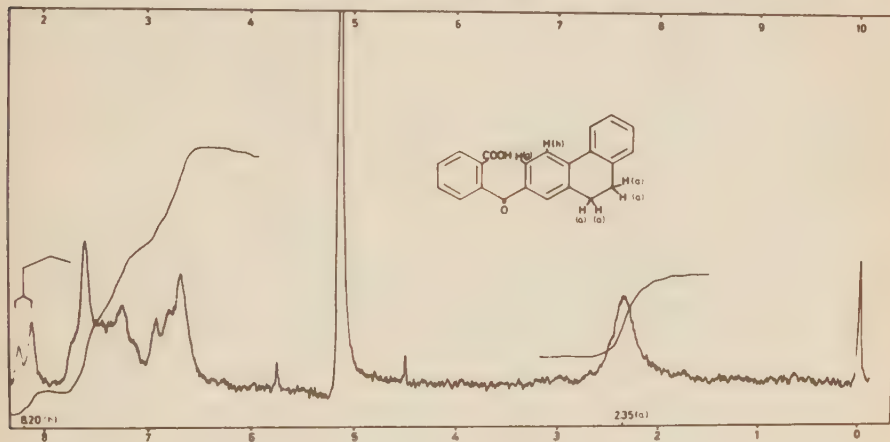
5. Die Verknüpfung des Anthrachinonchromophors mit der Isocumarinstruktur

Die Verknüpfung der Teilstrukturen 32 und 18 des δ -Gleisons durch die Diphenylbrücke und die C-3-C-4-Dimethylenbrücke des Ringes D wurde ursprünglich daraus abgeleitet, daß die Zinkstaubdestillation zu Isopentaphen- und Hexaphen-Strukturen führte, und daß die Elektronenspektren sowohl von δ -Gleison als auch von Anhydro- δ -gleison substituierten Polyhydroxy-anthraquinonen, nicht aber den entsprechenden Tetracen- oder Isopentaphen-Derivaten sehr ähnlich sind. Eine Bestätigung für die Struktur des Ringes D findet man im NMR-Spektrum des Anhydro- δ -gleison-tetraacetates in Form eines breiten Signals von 4 Protonen, welches mit $\delta = 2.83$ ppm im Absorptionsbereich von benzyllischen Protonen liegt. Aus der Form der Bande kann man schließen, daß sie vielfach, aber mit kleinen Kopplungskonstanten aufgespalten ist. Die Bandenstruktur wird auch im 100-MHz-Spektrum nicht aufgelöst, sondern nur zu einem unstrukturierten



Abbild. 26 NMR-Spektrum von Anhydro- δ -gleison-tetraacetat in CDCl_3

Signal verbreitert. Da die beiden Methylengruppen im nicht ebenen Ring D liegen und dadurch starr miteinander verbunden sind, hat jedes der vier Protonen eine etwas andere Umgebung. Dadurch wird die vielfache Aufspaltung des Signals gut erklärt. Es entspricht also sowohl in seiner Lage als auch in seiner Form der vorgeschlagenen Struktur. Zwar liegt im Vergleichsspektrum (Abbild. 27) einer Modellsubstanz⁺⁾ , die diese Dihydro-phenanthren-Struktur enthält, das Signal der Methylenprotonen (a)

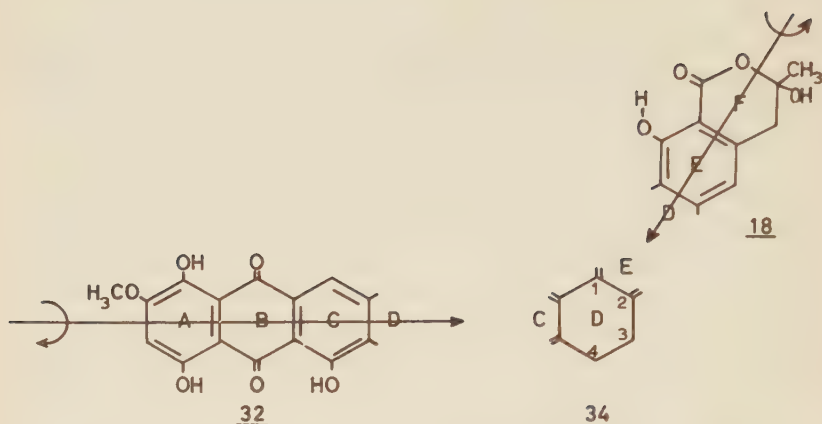


Abbild. 27 NMR-Spektrum einer Dihydro-phenanthren-Modellverbindung in CDCl_3

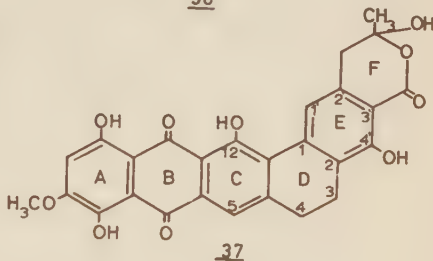
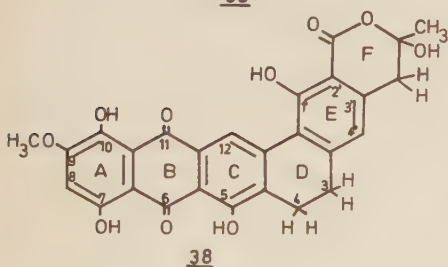
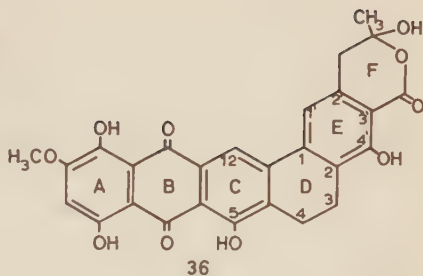
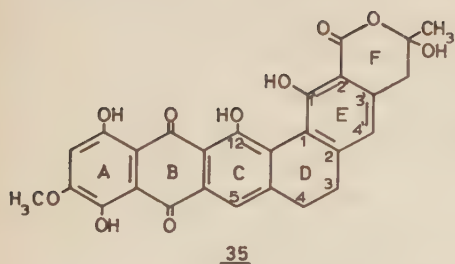
bei etwas höheren Feldstärken ($\delta = 2.35$ ppm), was aber mit dem Fehlen von Acetylgruppen an den aromatischen Ringen hinreichend erklärt ist; die Form der Bande ist jedoch erwartungsgemäß die gleiche wie im Spektrum des Anhydro- δ -gleison-tetraacetats.

Es ist jedoch noch nicht möglich, aus diesen drei Teilstrukturen (32, 34, 18) die endgültige Strukturformel für δ -Gleison aufzustellen, da noch ungeklärt ist, wie herum sie miteinander verknüpft sind. Für jeden der beiden Teilchromophore sind noch zwei Stellungen zur Verknüpfungsstelle mit Ring D möglich,

⁺⁾ Diese Substanz wurde mir von D. Spitzner zur Verfügung gestellt.

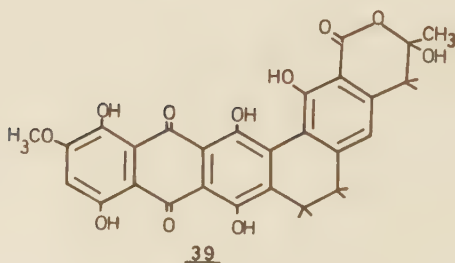
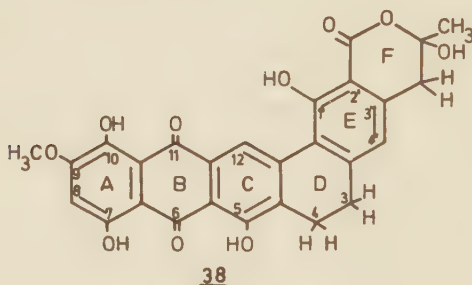


die formal durch Drehung um die eingezeichneten Längsachsen ineinander übergehen, wie aus den Formeln zu ersehen ist. Das ergibt insgesamt vier Isomere (35, 36, 37, 38), zwischen denen noch entschieden werden muß. Einziger Anhaltspunkt hierfür ist die Lage der NMR-Signale der aromatischen Protonen. Während zwei der aromatischen Protonen bei $\delta = 6.9$ und 7.1 ppm in demselben Bereich absorbieren wie vergleichbare Protonen in Acetoxy-anthrachinonen, liegt das Signal des dritten Protons ($\delta = 8.9$ ppm) bei für aromatische Protonen ungewöhnlich niedrigem Feld. Hier absorbieren jedoch Protonen in angular kondensierten Aromaten, die, wie z.B. die Protonen am C-4 und C-5 des Phenanthrens, an den Kohlenstoffatomen im eingeschlossenen Winkel haften¹⁹⁾. Diese Verschiebung kann sowohl durch das magnetische Feld von Ringströmen der benachbarten aromatischen Ringe verursacht sein als auch durch sterische Wechselwirkungen, die beträchtlich sind und die angularen Substituenten aus der Ebene des aromatischen Ringsystems herausdrücken. Die Verschiebung der Peaks derartiger Protonen gegenüber vergleichbaren Protonen in linear kondensierten Aromaten liegt in der Größenordnung von 1 ppm. Diese Verhältnisse wurden von Pople und Bernstein¹⁹⁾ bei aromatischen Kohlenwasserstoffen untersucht, sollten aber auch auf



die hier vorliegende substituierte Verbindung anzuwenden sein. Die Theorie würde also dafür sprechen, daß das bei 8.9 ppm absorbierende aromatische Proton an C-1' oder C-12 im Winkel zwischen Ring C und E des Isopentaphengerüstes steht. Da jedoch nur ein Proton in diesem Bereich absorbiert, kann auch nur einer der beiden Ringe ein derartiges "angulares" Proton tragen; der andere hat dann im Winkel eine der chelierten Hydroxygruppen. Somit scheidet 35, in dem die Hydroxygruppen mit den Kohlenstoffatomen C-1' und C-12 der Ringe C und E verknüpft und damit benachbart sind, ebenso aus, wie 36, in dessen Winkel zwei Wasserstoffatome sitzen. Für die Entscheidung zwischen den verbleibenden Formen 37 und 38 greife ich auf die am Anfang dieser Arbeit aufgestellte Behauptung zurück, daß γ -Gleison sich von

δ -Gleison nur durch eine zusätzliche Hydroxygruppe am Anthrachinon-chromophor unterscheidet. Diese zusätzliche Hydroxygruppe nimmt die im δ -Gleison freie peri-Stellung des 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinonchromophors ein, sodaß γ -Gleison als Derivat des 2-Methoxy-1.4.5.8-tetrahydroxy-anthrachinons anzusehen ist. Im NMR-Spektrum muß sich der Ersatz eines aromatisch gebundenen Protons durch eine Hydroxygruppe bzw. deren Acetylesther durch das Fehlen des betreffenden Signals bemerkbar machen. Tatsächlich findet man im NMR-Spektrum von Pentaacetyl-anhydro- γ -gleison nur zwei Signale für aromatische Protonen bei $\delta = 6.9$ und 7.1 ppm. Das Signal für das "angulare" Proton bei $\delta = 8.9$ ppm fehlt. Es kommt also beim δ -Gleison einem Proton in 12-Stellung des Ringes C zu. Damit ergibt sich für δ -Gleison die Formel 38 (und für γ -Gleison die Formel 39), welche mit den Forderungen der Acetathypothese in Einklang steht.



V. γ -Gleison

1. Kurze Charakterisierung

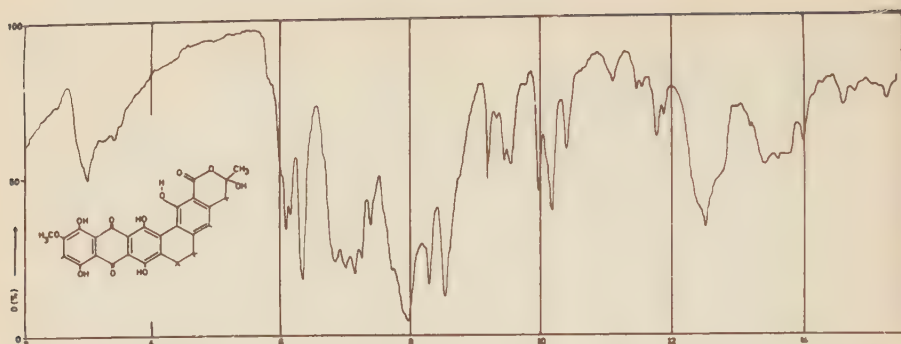
γ -Gleison kristallisiert aus Chloroform in roten Kristallen, die bei 320° nicht schmelzen. Lösungen in organischen Solventien sind karminrot und haben eine intensiv rote Fluoreszenz. Die Farbe von Lösungen in konzentrierter Schwefelsäure und in wäßrigem Alkalihydroxid ist blau. In Pyridin, Formamid, Dimethylformamid und alkoholischem Alkalihydroxid ist es gut löslich, schwer dagegen in Chloroform, Aceton und Methanol und unlöslich in Wasser sowie unpolaren organischen Lösungsmitteln.

Die Analyse paßt auf die Formel $C_{27}H_{20}O_{11}$ (520.5), die durch den Molekülpeak von 520 im Massenspektrum bestätigt wird. Eine C-Methyl- und eine Methoxygruppe ist vorhanden. Bei der Bestimmung von aktivem Wasserstoff nach Zerewitinoff löste sich die Substanz in Pyridin auch in der Wärme nicht ganz auf. Der Wert von 1.1% Wasserstoff, der 5.8 aktiven Wasserstoffmolekülen pro Molekül entspricht, ist deshalb nicht gesichert. Man kann aber annehmen, daß sechs der elf Sauerstoffatome der Summenformel als Hydroxygruppen vorliegen.

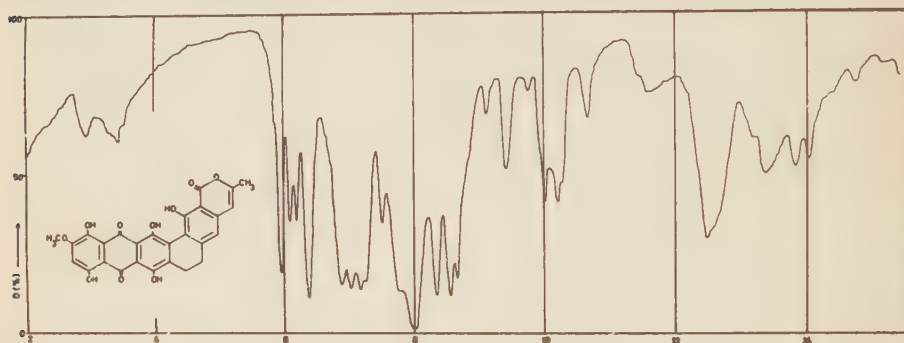
2. Struktur von γ -Gleison

Aus der Zinkstaubdestillation von γ -Gleison, welche das gleiche Gemisch von Kohlenwasserstoffen liefert wie δ -Gleison, können wir entnehmen, daß ebenfalls das gleiche Kohlenstoffgerüst vorliegt wie beim δ -Gleison. γ -Gleison bildet ein kristallines gelbes Pentaacetat, wobei eine aliphatische Hydroxygruppe als Wasser abgespalten wird, sodaß Anhydro- γ -gleison-pentaacetat vorliegt. γ -Gleison hat also eine acetylierbare Hydroxygruppe mehr als δ -Gleison.

Das Absorptionsspektrum von γ -Gleison in Chloroform (Abbild. 31) gleicht dem des 1.4.5.8-Tetrahydroxy-anthrachinons (Abbild. 33), jedoch sind diesem gegenüber die langwelligen Banden um ca. 20 m μ bathochrom verschoben.

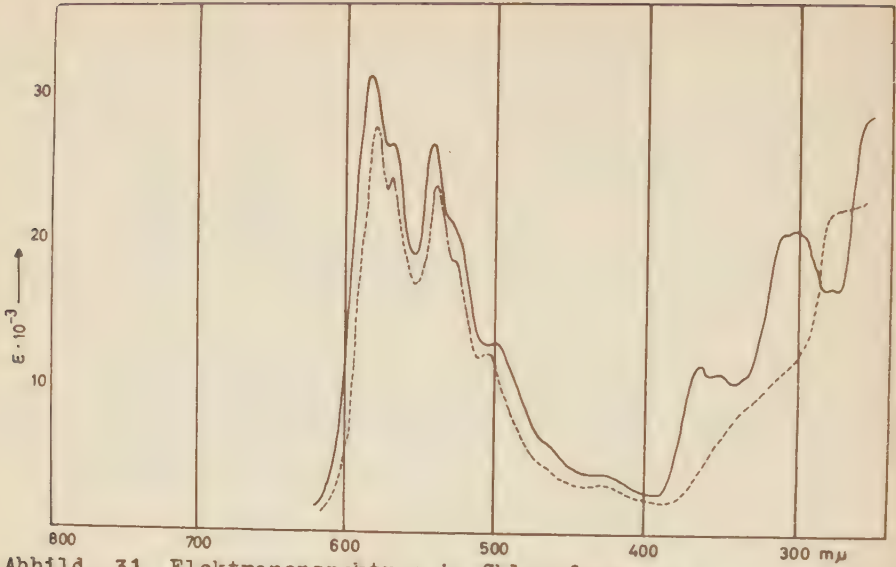


Abbild. 28 IR-Spektrum von γ -Gleison in KBr

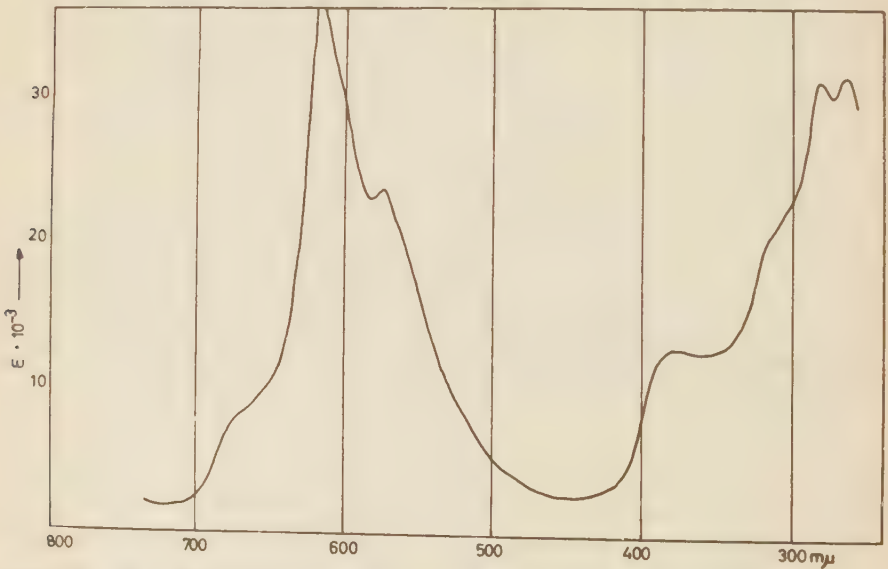


Abbild. 29 IR-Spektrum von Anhydro- γ -gleison in KBr

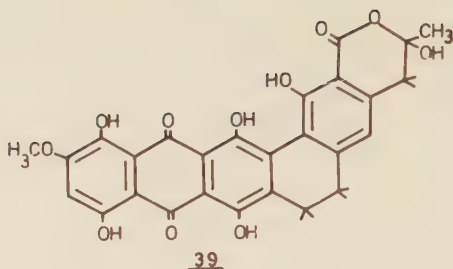
Im NMR-Spektrum des Anhydro- γ -gleison-pentaacetates (Abbild. 30) findet man die Signale für die Methoxygruppe (d, $\delta = 3.91$ ppm), die Methylgruppe (a, δ ca. 2.3 ppm), das Vinylproton (e, $\delta = 6.22$ ppm) und die zwei aromatisch gebundenen Protonen (f und g, $\delta = 7.13$ und 6.89 ppm) etwa an der gleichen Stelle wie beim Anhydro- δ -gleison-tetraacetat. Im Gegensatz zu diesem fehlt jedoch das Signal bei $\delta = 8.9$ ppm für das aromatisch gebundene Proton an C-12, außerdem zeigt das Integral 5 Acetylgruppen an. Deren Absorptionen sind teilweise gegenüber denen von δ -Gleison-tetraacetat etwas verschoben, wahrscheinlich, weil die großen Acetylreste im Winkel des Moleküls sehr eng stehen und dadurch das Molekül deformieren. Das Signal für die vier Methylenprotonen ist offenbar aus demselben Grund stark verbreitert, liegt aber



Abbild. 31 Elektronenspektren in Chloroform von
 ----- γ -Gleison ($\lambda_{\max}$ 580, 568, 538, 503 $m\mu$)
 ————— Anhydro- γ -gleison ($\lambda_{\max}$ 584, 572, 542, 506 $m\mu$)



Abbild. 32 Elektronenspektrum von Anhydro- γ -gleison in konz.
 Schwefelsäure ($\lambda_{\max}$ 617, 574, 380, 282, 264 $m\mu$)



VI. β -Gleison

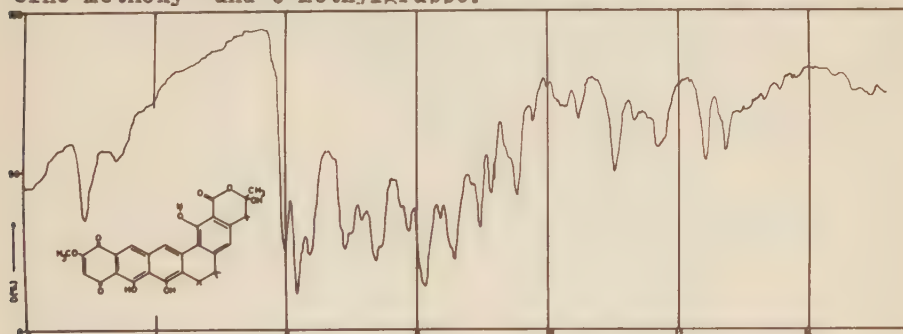
1. kurze Charakterisierung

β -Gleison kristallisiert aus Chloroform in violettschwarzen, metallisch glänzenden Prismen, die sich bei 280° zersetzen. Es löst sich ähnlich schwer wie γ - und δ -Gleison. Die Lösungsfarbe in organischen Solventien ist violettrot, mit violetter Farbe wird es an saurem Kieselgel und an Gips adsorbiert. In konzentrierter Schwefelsäure löst es sich blaugrün, in wäbrigem Alkalihydroxid blau. Die Analysenzahlen passen auf die Summenformel $C_{27}H_{20}O_9$, (488,5), mit je einer C-Methyl- und Methoxygruppe. β -Gleison spaltet mit Säuren Wasser ab unter Bildung von kristallisiertem Anhydro- β -gleison, dessen Analysenzahlen auf $C_{27}H_{18}O_8$ (470,5) passen.

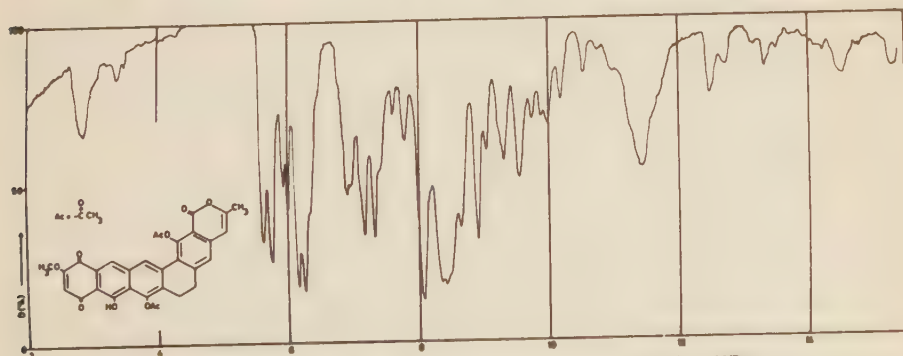
2. Struktur von β -Gleison

Das Massenspektrum von Anhydro- β -gleison zeigt neben dem erwarteten Molekülpeak bei 470 einen schwächeren Peak mit der Massenzahl 472. Da Anhydro- β -gleison durch verteilungs- und adsorptionschromatographische Trennungen mehrfach gereinigt

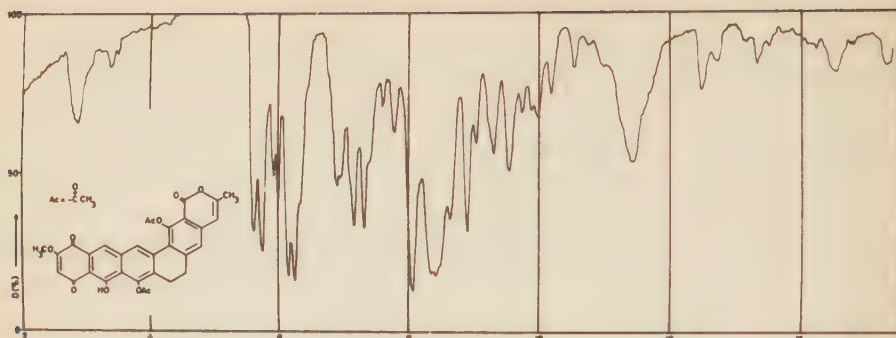
worden war, war nicht anzunehmen, daß die Massenzahl 472 auf Beimengung eines Dihydroproduktes zurückzuführen war. Nach G. Spiteller¹⁸⁾ erklärt sich das Auftreten eines $M+2$ -Peaks bei schwerflüchtigen Chinonen dadurch, daß sie im Spektrometer durch Disproportionierung zum Teil in Hydrochinone umgewandelt werden, wobei ein anderer Teil als Wasserstoffdonator wirkt. Wenn dann das leichter flüchtige Hydrochinon bevorzugt abdestilliert, kann der dadurch entstehende Peak des Hydrochinons ein falsches Molekulargewicht ($M+2$) vortäuschen. Danach kann als sicher gelten, daß der Peak bei 472 der $M+2$ -Peak ist und daß das Molekulargewicht 470 beträgt. β -Gleison ist nur um ein Sauerstoffatom ärmer als δ -Gleison, hat die gleiche Anzahl von Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen und enthält ebenso wie dieses eine Methoxy- und C-Methylgruppe.



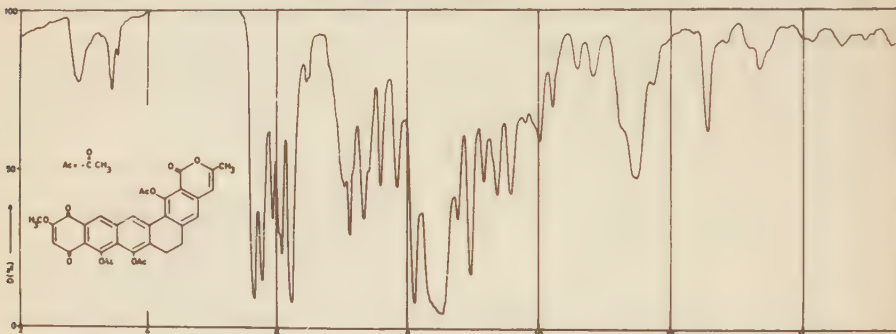
Abbild. 35 IR-Spektrum von β -Gleison in KBr



Abbild. 36 IR-Spektrum von Anhydro- β -gleison in KBr



Abbild. 37 IR-Spektrum von Anhydro-β-gleison-diacetat in KBr



Abbild. 38 IR-Spektrum von Anhydro-β-gleison-triacetat in KBr

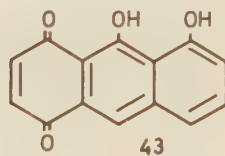
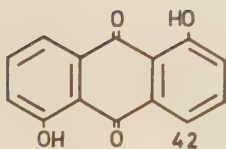
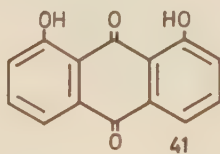
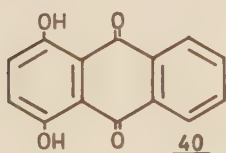
Um sicher zu gehen, daß das Kohlenstoffgerüst von β-Gleison mit dem der anderen Gleisone übereinstimmt, unterwarf ich β-Gleison einer Zinkstaubdestillation unter den oben beschriebenen Bedingungen. Als Reaktionsprodukt erhielt ich erwartungsgemäß das gleiche Gemisch von Isopentaphen- und Hexaphen-Derivaten wie bei δ-Gleison. Das Kohlenstoffgerüst von β-Gleison ist also das gleiche wie von γ- und δ-Gleison.

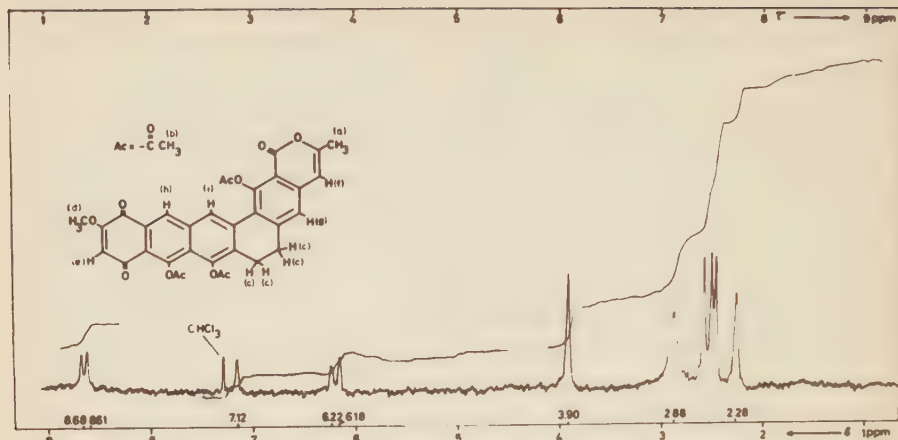
Das IR-Spektrum von Anhydro-β-gleison zeigt eine intensive Carbonylbande bei 1680/cm, die gegenüber der Carbonylfrequenz von β-Gleison 1660/cm nach höheren Wellenzahlen verschoben ist, analog wie es schon bei den anderen Gleisonen beschrieben wurde. Da auch die weitere Verschiebung durch Acetylierung - es ließen sich einheitliches Diacetat und Triacetat gewinnen - den bei

γ - und δ -Gleison beobachteten Werten entspricht, konnte ich annehmen, daß die Ringe E und F mit gleicher Struktur wie im δ -Gleison vorliegen.

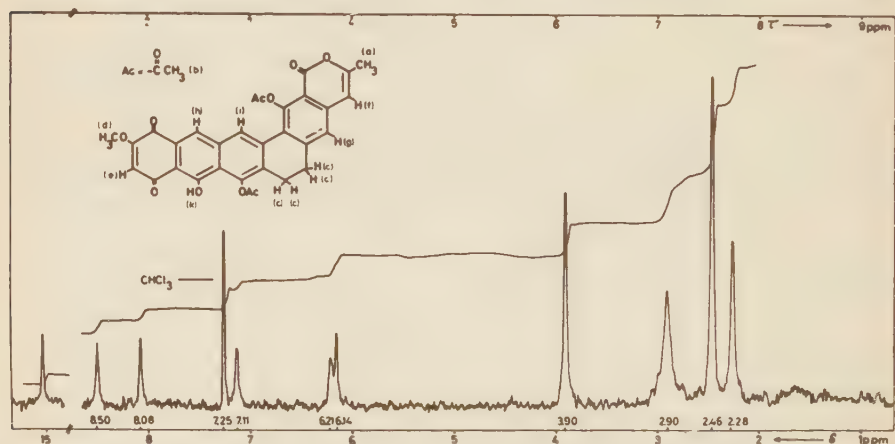
Die Abweichung der Struktur ist also im Bereich der Ringe A - D zu suchen. β -Gleison gibt mit Pyridin-acetanhydrid neben einem roten, kristallisierten Diacetat ein gelbes kristallisiertes Triacetat. Es liegen also drei acetylierbare Hydroxygruppen vor, von denen eine am Ring E haftet, da die Ringe E und F, wie aus dem Vergleich der IR-Spektren hervorgeht, die gleiche Struktur haben wie im δ -Gleison.

Denkt man sich aus dem 1.4.5-Trihydroxy-anthrachinon-Chromophor des δ -Gleisons eine OH-Gruppe entfernt, so kommt man, je nachdem welche OH-Gruppe entfernt wird, zu den Chromophoren 40, 41, 42. Diese sind aber alle gelb oder gelbbrot gefärbt und kommen daher als Chromophore von β -Gleison nicht infrage.



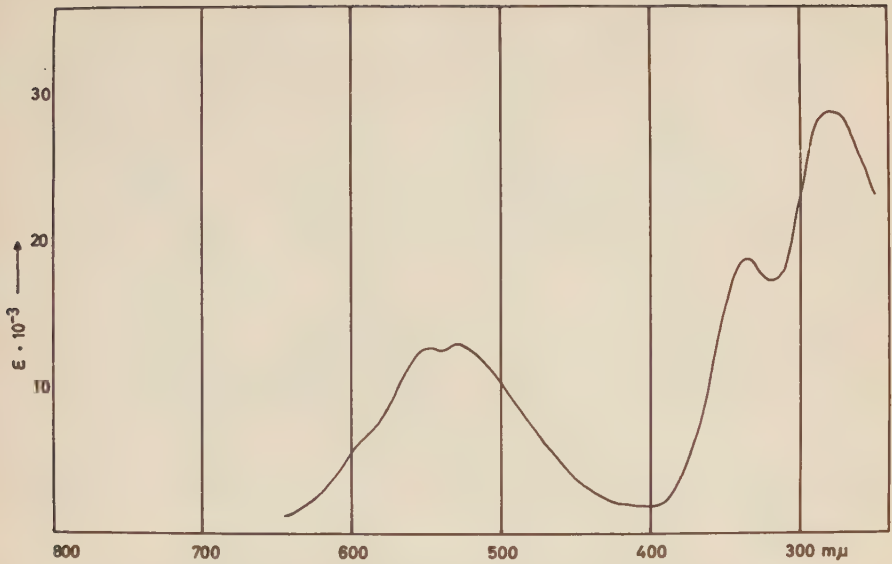


Abbild. 39 NMR-Spektrum von Anhydro-β-gleison-triacetat in CDCl₃

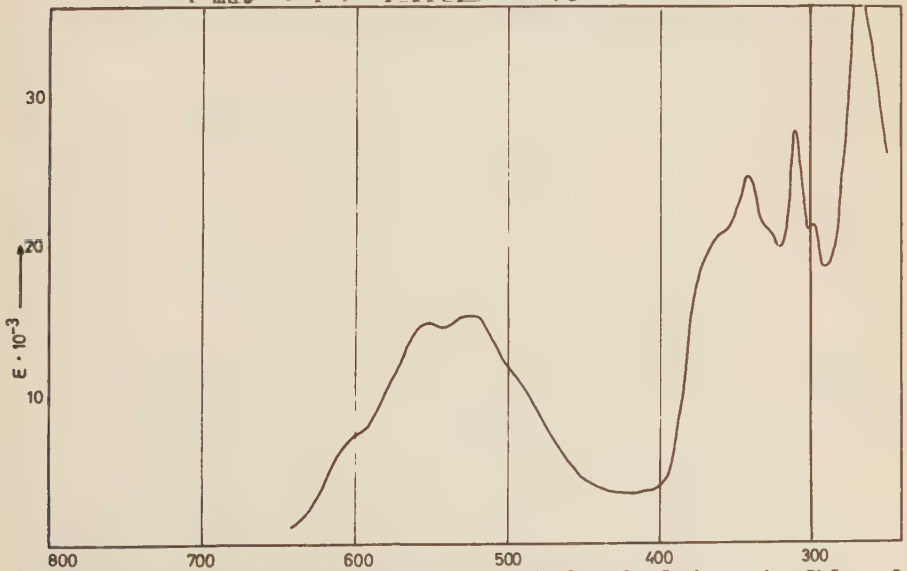


Abbild. 40 NMR-Spektrum von Anhydro-β-gleison-diacetat in CDCl₃

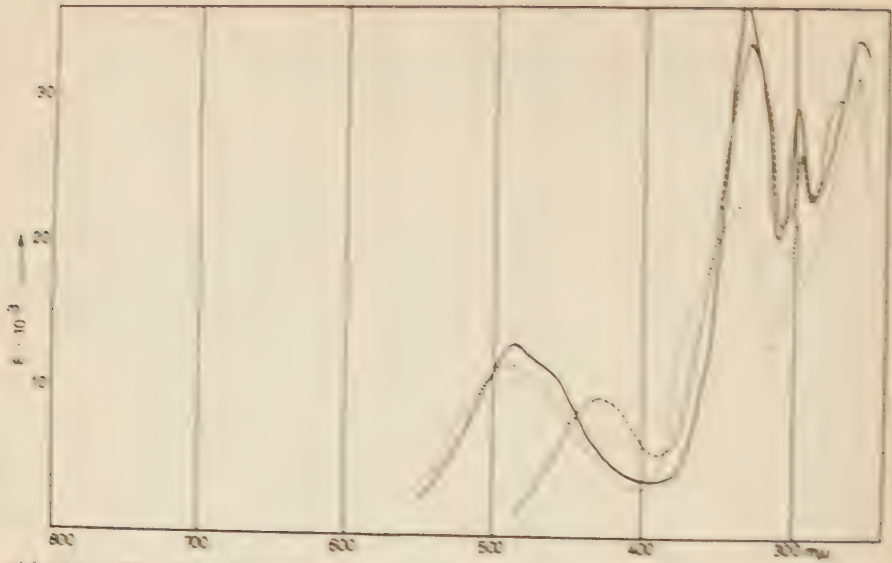
Im NMR-Spektrum des Triacetates (Abbild. 39) findet man die Signale für die Methylgruppe (a, $\delta = 2.28$ ppm) und das Vinylproton (f, $\delta = 6.22$ ppm) von Ring F in der gleichen Lage wie beim Anhydro-β-gleison-tetraacetat, sodaß auch hier offenbar wieder das Acetat des Anhydroproduktes vorliegt. Die 4-Protonen-Absorption bei 2.90 ppm beweist das Vorliegen einer Dimethylenbrücke,



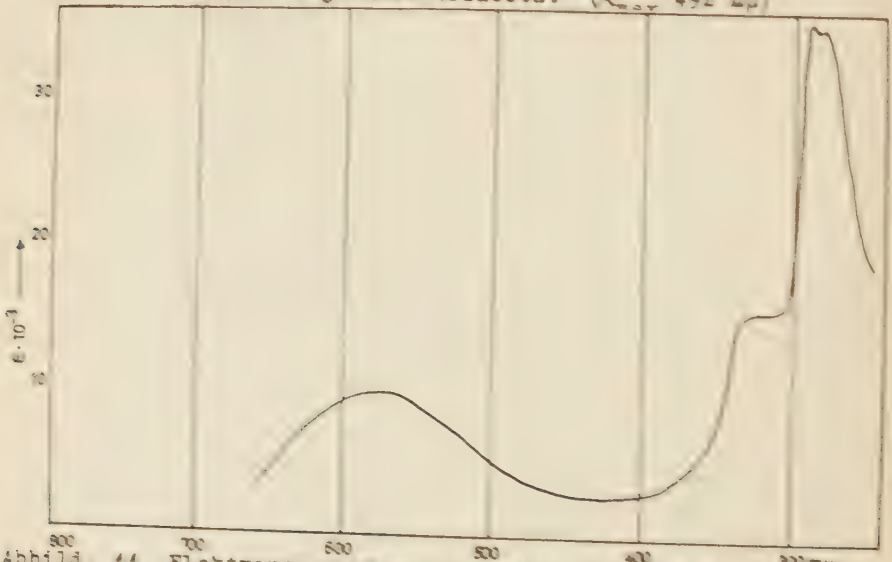
Abbild. 41 Elektronenspektrum von β -Gleison in Chloroform
($\lambda_{\max}$ 555, 522, 335, 288 $m\mu$)



Abbild. 42 Elektronenspektrum von Anhydro- β -gleison in Chloroform
($\lambda_{\max}$ 55, 522, 342, 310, 266 $m\mu$)



Abbild. 43 Elektronenspektren in Chloroform von
 ----- Anhydro- β -gleison-monoacetat (λ_{max} 430 μ)
 ————— Anhydro- β -gleison-diacetat (λ_{max} 486 μ)
 Anhydro- β -gleison-triacetat (λ_{max} 492 μ)

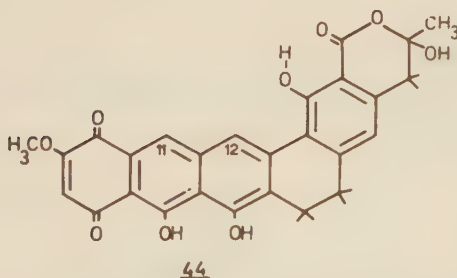


Abbild. 44 Elektronenspektrum von α -Gleison in Chloroform
 (λ_{max} 580 μ)

sodaß auch die Struktur des Ringes D die gleiche zu sein scheint wie in δ - und γ -Gleison. Die β -Protonen-Absorption bei 3.90 ppm entspricht der Methoxygruppe, die vermutlich an der gleichen Position steht wie im γ - und δ -Gleison.

Abweichend von δ -Gleison liegt ein scharfes Einprotonen-Signal bei $\delta = 6.18$ ppm, das ein weiteres Vinylproton anzeigt, und von den drei Signalen für aromatische Protonen liegt nur eins mit 7.12 ppm im üblichen Bereich. Zwei weitere findet man bei 8.61 und 8.68 ppm

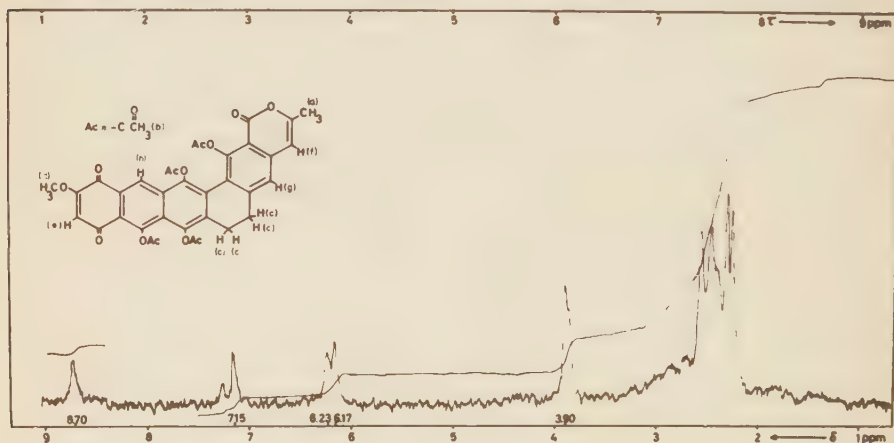
Daß β -Gleison ein zweites Vinylproton besitzt, läßt sich durch die Annahme erklären, daß hier die chinoide Gruppierung am Rande des Ringsystems, also im Ring A, zu suchen ist, sodaß die chinoide Doppelbindung ein Proton tragen kann (43). Unter Anlehnung an die Formel des δ -Gleisons ergibt sich damit für β -Gleison die Formel 44, die sich von δ -Gleison dadurch unter-



scheidet, daß am Kohlenstoffatom C-11 kein Sauerstoff haftet. Damit ist eine Chinonstruktur nur noch im Ring A denkbar. Diese Formel kann alle Signale des NMR-Spektrums erklären. Die Lage des Peaks für das Proton an C-11 bei einem δ -Wert von ca. 8.61 ppm beruht offenbar auf dem Einfluß des benachbarten chinoiden und benzoiden Ringes.

VII. α -G l e i s o n

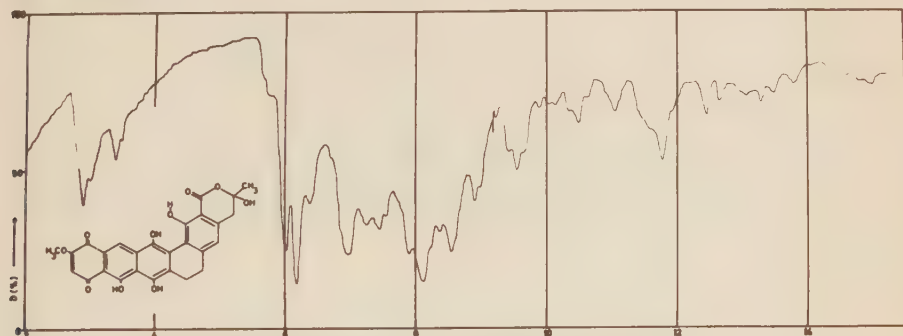
α -Gleison erhielt ich nach der chromatographischen Isolierung als dunkelblaues, feinkristallines Pulver. In Lösung ist die Substanz nicht beständig und geht, besonders beim Belichten, in gelbe Produkte über, die nicht restlos entfernt werden konnten. In konzentrierter Schwefelsäure löst es sich grün, in wäßrigem Alkalihydroxid blau. Die Analysenzahlen passen leidlich auf die Formel $C_{27}H_{20}O_{10}$ und weisen damit die Verbindung als Isomeres des β -Gleisons aus. Aufgrund der besonders langwelligen Absorption der Verbindung in Chloroform (Abbild. 44) und in konzentrierter Schwefelsäure (Abbild. 49) konnte ich für die Struktur des Chromophors ein Polyhydroxy-anthraquinon-(9.10) ausschließen, und es lag nahe, auch hier ein Derivat des Anthrachinon-(1.4) zu vermuten.



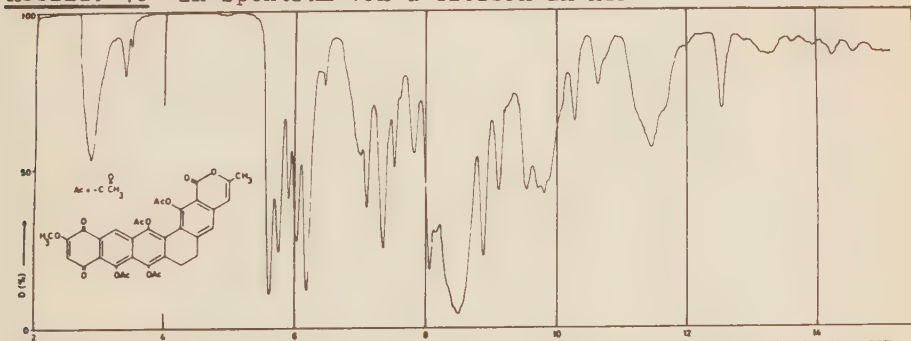
Abbild. 45 NMR-Spektrum von Anhydro- α -gleison-tetraacetat in $CDCl_3$ (δ : d = 3.90, e = 6.17, f = 6.23, g = 7.15, h = 8.70 ppm)

Das IR-Spektrum von α -Gleison (Abbild. 46) ist dem von β -Gleison (Abbild. 35) sehr ähnlich. α -Gleison bildet ein gelbes Tetraacetat, dessen IR-Spektrum (Abbild. 47) dem des β -Gleison-triacetates (Abbild. 38) so ähnlich ist, daß nur geringe struk-

turelle Unterschiede zwischen den beiden Verbindungen möglich scheinen. Diese Befunde deuten darauf hin, daß sich α -Gleison von β -Gleison nur durch den Besitz einer vierten acetylierbaren Hydroxygruppe unterscheidet. Aufgrund biogenetischer Vorstellungen kommt für die Position dieser zusätzlichen Hydroxygruppe nur die C-12-Stellung am Ring C infrage. Dementsprechend fehlt im NMR-Spektrum des Anhydro- α -gleison-tetraacetates eins der beiden aromatisch gebundenen Protonen mit den δ -Werten von 8.61 und 8.68, die im NMR-Spektrum von Anhydro- β -gleison-tetraacetat auftreten.



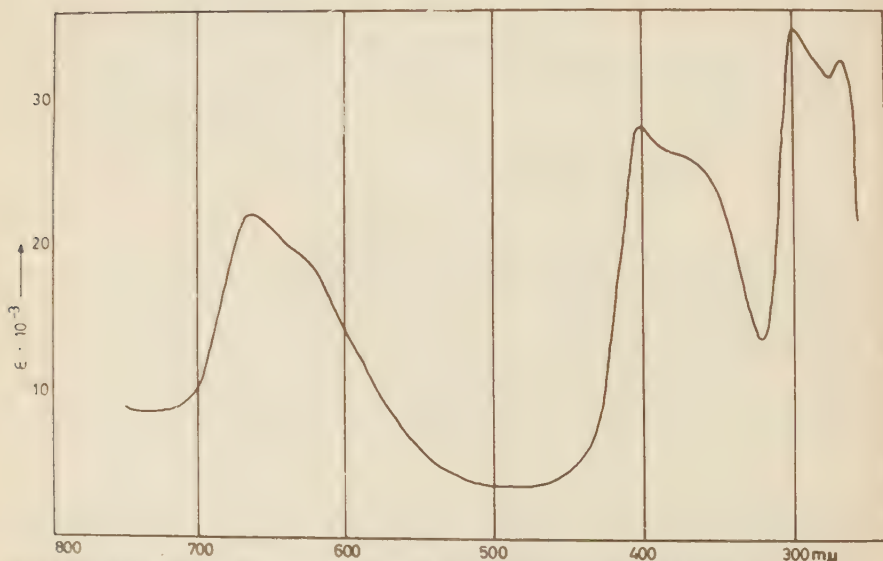
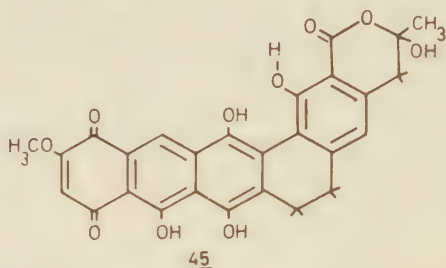
Abbild. 46 IR-Spektrum von α -Gleison in KBr



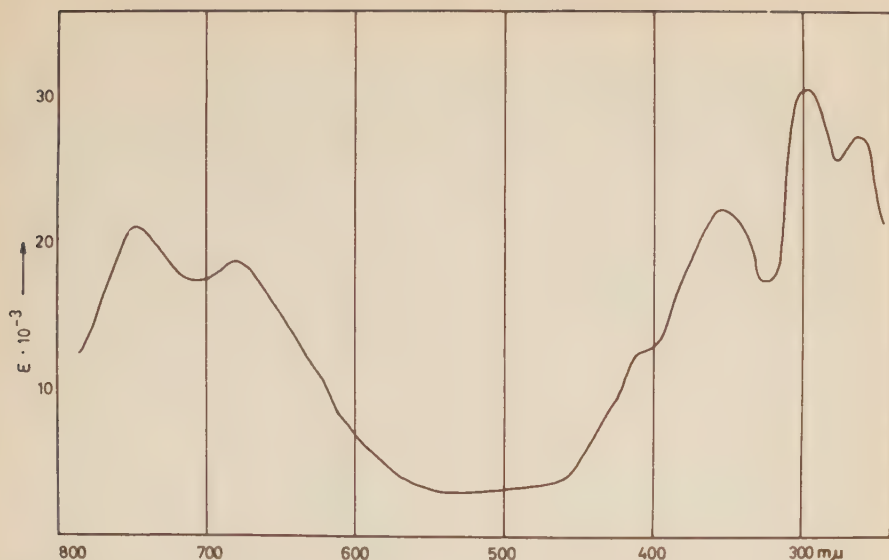
Abbild. 47 IR-Spektrum von Anhydro- α -gleison-tetraacetat in KBr

Die Signale der zwei Vinylprotonen (τ = 6.17, nicht aufgespalten und τ = 6.23 mit der geringen Aufspaltung) haben die gleiche Lage wie beim Anhydro- β -gleison-tetraacetat. Die übrigen Proto-

nensignale gleichen in Lage und Form erwartungsgemäß denen im NMR-Spektrum von Anhydro- γ -gleison-pentaacetat: Der Peak der Methylprotonen fällt in den Bereich der Absorptionen der Acetylprotonen (a,b, δ ca. 2.1-2.5 ppm). Die Methylenprotonen an Ring D geben ein stark aufgespaltenes Signal. Ebenso wie beim Anhydro- γ -gleison-pentaacetat ist dafür die zusätzliche Acetoxygruppe an C-12 verantwortlich. Da auch die Absorptionen der Protonen der Methoxygruppe sowie des aromatischen Protons an C-4' an der erwarteten Stelle liegen, ergibt sich aus diesen Befunden für α -Gleison die Formel 45.



Abbild. 48 Elektronenspektrum von Anhydro- β -gleison in konz. Schwefelsäure ($\lambda_{\max}$ 666, 405, 300, 270 mμ)

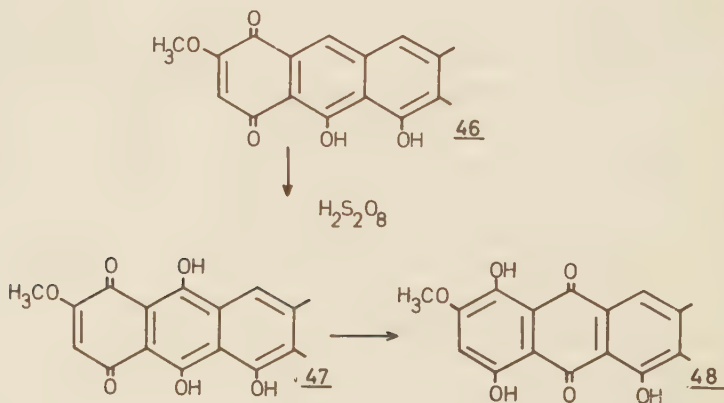


Abbild. 49 Elektronenspektrum von Anhydro- α -gleison in konz. Schwefelsäure ($\lambda_{\max}$ 750, 680, 356, 298, 264 m μ)

VIII. Umwandlung von β - in δ -Gleison

Da die Modellsubstanzen für die Chromophore von β - und α -Gleison, das 2-Methoxy-5.6-dihydroxy- und das 2-Methoxy-5.6.9-trihydroxy-anthrachinon-(1.4), noch nicht bekannt sind, und ihre Synthesen, besonders die der unbeständigen Trihydroxyverbindungen, ziemlich schwierig sein dürften, suchte ich nach einer anderen Bestätigung für die Struktur dieser Verbindungsgruppe. Besonders wichtig schien mir die Möglichkeit, ein Gleison der ersten Gruppe (α oder β) in ein Gleison der zweiten Gruppe (γ oder δ) zu überführen oder umgekehrt. So setzte ich β -Gleison mit Oxydationsmitteln um, um zu γ - oder δ -Gleison zu kommen. Verbindungen des dreiwertigen Eisens reagierten unter augenblicklicher Entfärbung der Lösungen, also unter Zerstörung des Chromophors. Auch Freny-Salz¹⁹⁾ und Wasserstoffperoxyd unter verschiedenen Bedingungen angewandt gaben keine bekannten Verbindungen.

Zum Erfolg führte die Hydroxylierung von β -Gleison mit Peroxydischwefelsäure. Zunächst verwendete ich bei dieser Reaktion konzentrierte Schwefelsäure als Lösungsmittel und erhielt in geringer Ausbeute eine Verbindung, die papier- und dünn-schichtchromatographisch als Anhydro- δ -gleison erkannt wurde. Wie zu erwarten kann man also unter diesen stark sauren Bedingungen nur das Anhydroprodukt erhalten. Das gleiche Reaktionsprodukt erhielt ich folglich auch, wenn ich von vornherein Anhydro- β -gleison einsetzte. Bei Verwendung eines Gemisches von Dioxan, Schwefelsäure und Wasser als Reaktionsmedium erhielt ich ein zweiphasiges System; β -Gleison löste sich in der organischen Oberphase mit violettroter Farbe. Die Reaktion setzte bei Raumtemperatur erst dann ein, als durch Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure das Schwefelsäure/Wasser-Verhältnis dem einer 70-proz. Schwefelsäure entsprach. Dabei bildete sich die Peroxydischwefelsäure aus Kalium-peroxydisulfat, das in großem Überschuß als Bodenkörper vorlag. Diese Reaktionsbedingungen sind so mild, daß ich nach Chromatographie an Oxalsäure-Kieselgel über 80% Ausbeute an kristallisiertem δ -Gleison



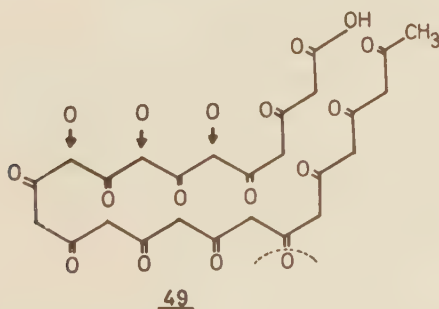
erhielt. Nebenprodukte treten im Dünnschicht- und Papierchromatogramm kaum in Erscheinung. Auf der Kieselgelsäule konnte jedoch eine geringe Menge Anhydro- δ -gleison isoliert werden; außerdem beobachtete ich eine schwache blaue Zone, die sich bald gelb färbte und nicht eluiert wurde.

Das erhaltene δ -Gleison hat in den drei gewöhnlich verwendeten chromatographischen Systemen die gleichen R_F -Werte wie natives δ -Gleison (System I, II, III und Tetralin/Dekalin-System). Außerdem sind die Absorptions- und IR-Spektren identisch. Mit der Überführung von β -Gleison in δ -Gleison ist die strukturelle Verwandtschaft beider Farbstofftypen gesichert.

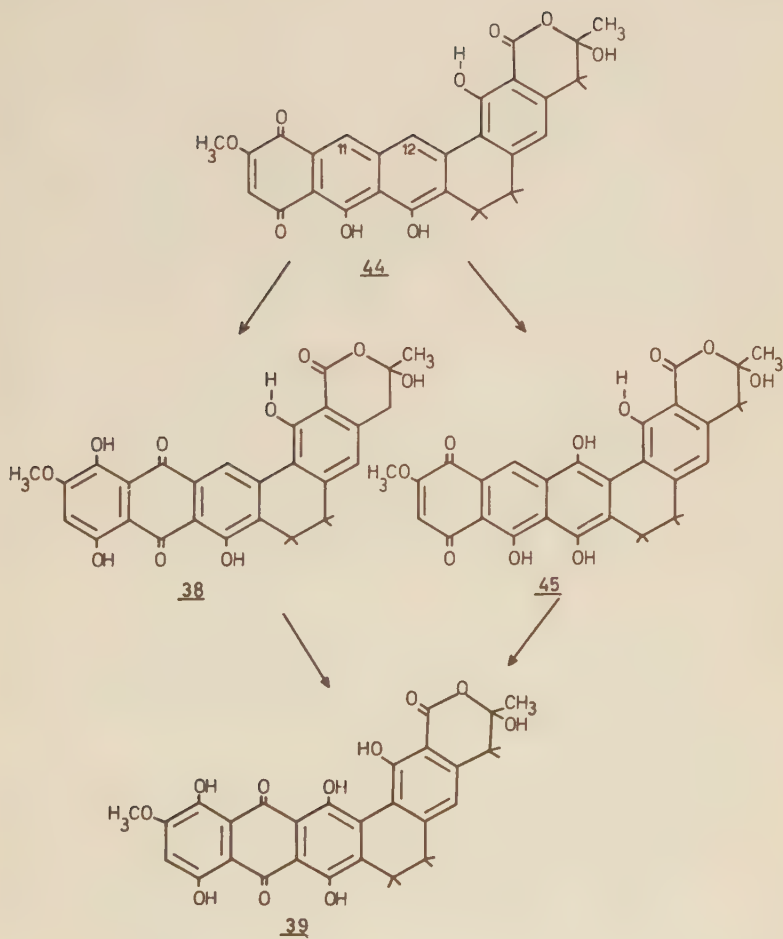
Leider gelang es mir nicht, die Hydroxylierungsreaktion auch auf α -Gleison zu übertragen: Mit 70-proz. Schwefelsäure tritt noch keine Reaktion ein. Bei weiterer, vorsichtiger Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure färbt sich das violette Reaktionsgemisch unter Zersetzung der gefärbten Substanz rasch braun, und man erhält keine nachweisbare Menge des erwarteten γ -Gleisons.

IX. Zur Biosynthese der Gleisone

Die Struktur der Gleisone steht in guter Übereinstimmung mit der Acetathypothese. Für ihre Biosynthese ist außer den üblichen Cyclisierungsmechanismen und nachträglichen Hydroxylierungen nur die Eliminierung einer Hydroxygruppe an C-4 notwendig, um zum Strukturtyp der Gleisone zu kommen (49). Die



Hydroxylierungsreaktionen nehmen von dem gemeinsamen Mono-oxy-Produkt, dem β -Gleison (44), die verschiedenen Wege über die Isomeren α - und δ -Gleison (45, 38), je nachdem, ob C-11 oder C-12 zuerst oxydiert wird. Da sich jeweils das stabilste Chinon ausbildet (die Hydrochinone sind an der Luft unbeständig), entsteht durch Oxydation an C-11 ein Anthrachinon-(9.10)-Derivat. Endstufe dürfte auf beiden Wegen das γ -Gleison (39) sein (siehe Formelschema auf S. 67). Diese Vermutung findet ihre Bestätigung in der zeitlichen Aufeinanderfolge im Auftreten der Gleisone in den Kulturen. Man findet nach mittlerer Wachstumsdauer hauptsächlich α - und β -Gleison, während in älteren Kulturen, die bereits vor der Zersetzung stehen, δ - und viel γ -Gleison enthalten sind. Besonders begünstigt ist die Bildung von γ -Gleison in Submerskulturen, offenbar weil hier ein stärker oxydierendes Milieu vorliegt.



Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Kulturbedingungen eines Streptomycesstammes mit der Bezeichnung Gleis 347 wurden hinsichtlich der Bildung von antibiotisch und cytostatisch wirksamen Substanzen untersucht. Aus Oberflächenkulturen wurden vier noch nicht bekannte Farbstoffe isoliert: Das blaue α -, violette β -, karminrote γ - und das gelbrote δ -Gleison. Wie die Zinkstaubdestillation zeigte, ist der Stammkohlenwasserstoff der vier neuen Verbindungen Isopentaphen. Bei allen 4 Gleisonen haben die Ringe E und F die Struktur eines substituierten Dihydro-isocumarins. Der Chromophor von α -Gleison ist 2-Methoxy-5.6.9-trihydroxy-anthrachinon-(1.4), von β -Gleison 2-Methoxy-5.6-dihydroxy-anthrachinon-(1.4), von γ -Gleison 2-Methoxy-1.4.5.8-tetrahydroxy-anthrachinon-(9.10) und von δ -Gleison 2-Methoxy-1.4.5-trihydroxy-anthrachinon-(9.10). Die Untersuchung führte zu Strukturvorschlägen. 1.4-Anthrachinon-Derivate sind bisher als Naturstoffe noch nicht beschrieben, und die genannten Chromophore sind noch nicht bekannt. Durch milde Oxydation gelang es, β -Gleison in δ -Gleison und damit den 2-Methoxy-5.6-dihydroxy-anthrachinon-(1.4)-Chromophor in den 2-Methoxy-1.4.5-trihydroxy-anthrachinon-(9.10)-Chromophor zu überführen. Für alle vier Gleisone wurden Konstitutionsformeln aufgestellt.

Die Gleisone sind eine Gruppe von Farbstoffen, die nahe miteinander verwandt sind und offenbar bei der Biosynthese durch Oxydation einer gemeinsamen Ausgangsverbindung gebildet werden, deren Struktur man zwanglos mithilfe der Acetathypothese erklären kann.

Eine besondere biologische Wirksamkeit der Gleisone konnte nicht nachgewiesen werden, es ist aber wahrscheinlich, daß die von dem Stamm Gleis 347 produzierten, cytostatisch wirksamen Stoffe eine ähnliche Struktur wie die untersuchten Gleisone besitzen.

B E S C R E I B U N G D E R V E R S U C H E

I. Allgemeines

Verwendete Meßgeräte

Alle Schmelzpunkte wurden im Berl-Block gemessen und korrigiert. Zur Aufnahme der Elektronenspektren diente das Zeiss-Spektralphotometer PMQ 11.

Die IR-Spektren wurden mit dem Perkin-Elmer-Spektrographen Modell 21 aufgenommen.

Die NMR-Spektren wurden im Varian-A-60 mit Tetramethylsilan (TMS) als innerem Standard gemessen.

Die Massenspektren wurden mit dem Atlas-MAT-Massenspektrometer CH 4 gemessen (Festkörperionenquelle TO 4, Elektronenenergie 70 eV)

Chromatographische Methoden

Für papierchromatographische Trennungen wurde das zweiphasige Lösungsmittelsystem Tetralin/Dekalin/Eisessig/Wasser (5:5:10:1) auf Rundfilter der Fa. Schleicher u. Schüll Nr. 2043 b verwendet. Für dünnschichtchromatographische Trennungen beschichtete man 10x20 cm-Platten mit folgenden Gemischen:

1. Saure Platten

30 g Kieselgel G (Merck) mit 60 ccm 0.5 n Oxalsäure

2. Basische Platten

30 g Kieselgel G (Merck) mit 60 ccm 0.5 n NaHCO_3 .

Die luftgetrockneten Platten aktivierte man 1 Stde. bei 110° .

3. Polyamid: 5 g Polyamid (Woelm), z. D.-C. mit 45 ccm Chloroform/Methanol (3:2); die Platten wurden luft-trocken verwendet.

Für die Säulenchromatographie verwendete man feines Kieselgel (Merck), Korngröße unter 0.08 mm.

1. NaHCO_3 -Kieselgel: man rührte 1 kg feines Kieselgel mit 2 l 0.5 n NaHCO_3 an, trocknete in flachen Schalen bei 120° und siebte vor Gebrauch.

2. Oxalsäure-Kieselgel: Man verrührte 1 kg feines Kieselgel mit 2 l 0.5 n Oxalsäure, trocknete in flachen Schalen bei 120° und siebte vor Gebrauch.

Chromatographische Systeme, die zur präparativen Trennung der Gleisone verwendet wurden

System-Nr.	Adsorptionsmittel oder Trägersubstanz	Lösungsmittelsystem
I	Oxalsäure-Kieselgel	Chloroform/Aceton (20:1)
II	Feines Kieselgel	Chloroform/Formamid/Ameisen- säure (10:1:1), Unterphase
III	NaHCO ₃ -Kieselgel	Chloroform/Aceton/Methanol (1:1:1)
IV	Polyamid z. D.C.	Chloroform/Eisessig (bis 10%)
V	Gips (<u>Riedel de Haen</u>) 5 Stdn. bei 165° aktiv.	Chloroform, wenn nötig unter Zusatz von 5% Aceton

II. Gewinnung und Isolierung der Gleisone

1. Kultur des Stammes "Gleis 347" und Aufarbeitung eines Ansatzes

1000 P-Kolben mit synthetischer Nährlösung (3% Glycerin, 1% KNO₃, 0.1% K₂HPO₄, 0.1% NaCl, Spurenelemente) wurden mit KNO₃-Agar-Kulturen des Stammes "Gleis 347" beimpft. Nachdem die Kulturen 3 Wochen bei 28° gewachsen waren, wurde das Mycel, welches eine dunkelgrüne oder blauschwarze Farbe angenommen hatte, geerntet (ca. 500 Kolben). Das blaßgelb bis braun gefärbte Mycel der übrigen 500 Kolben sowie das gesamte Kulturfiltrat, welches weder antibiotische noch cytostatische Wirksamkeit aufwies, wurden verworfen.

Man extrahierte das Mycel dreimal mit insgesamt 30l Aceton und erhielt nach dem Zentrifugieren eine dunkelblaue Lösung; diese wurde mit Eisessig neutralisiert, wobei sie sich rot färbte, und i. Vak. eingedampft, bis sie zu schäumen begann. Aus diesem Konzentrat extrahierte man die teilweise schmierig ausgefallenen Farbstoffe mit Chloroform, schüttelte die dunkelrote Chloroformphase mehrmals mit Wasser (zunächst unter Zusatz von Aceton) aus und trocknete sie mit Natriumsulfat. Man filtrierte den getrockneten Extrakt durch eine Schicht von 10 cm Natriumsulfat, engte ihn auf 1/2 l ein und goß ihn in 1 l

Petroläther. Der braunviolette Niederschlag wurde abzentrifugiert und ergab nach Trocknung 50 g pulvriges Rohprodukt.

2. Chromatographische Trennung des Rohproduktes an Polyamid (System IV)

50 g Rohprodukt wurden in 500 ccm Aceton/Chloroform (1:1) gelöst auf eine 8x80 cm-Säule von Polyamid gegeben. Beim Eluieren mit Chloroform liefen gelbe, braune und grünliche Zonen ins Filtrat, aus welchem man nach Eindampfen i. Vak. 30 g eines gelben Pulvers erhielt (Fraktion 1.1). Erst nach Zusatz von 10% Eisessig zum Chloroform ließ sich eine starke, violette Zone eluieren, aus welcher man nach Ausschütteln des Eluates mit Wasser und Eindampfen der Chloroformphase i. Vak. 10 g eines violetten Pulvers erhielt (Fraktion 1.2).

Die danach ins Filtrat wandernde blaue Zone ergab nach gleichartiger Aufarbeitung 6 g eines blauschwarzen Pulvers (Fraktion 1.3).

Die fehlenden 6 g konnten mit den üblichen Lösungsmitteln nicht mehr eluiert werden, sodaß die Säule violett blieb.

Fraktion 1.1 wurde bisher nicht weiter untersucht; Fraktion 1.2 enthielt die gesamte Menge β -, γ - und δ -Gleison sowie zahlreiche Begleitsubstanzen. Fraktion 1.3 enthielt an gefärbten Komponenten hauptsächlich α -Gleison neben geringen Mengen anderer blauer und violetter Substanzen.

3. Weitere Auftrennung von Fraktion 1.3; Gewinnung von α -Gleison

Durch Chromatographie unter Lichtausschluß an einer 8x80 cm-Säule von Oxalsäure-Kieselgel mit Chloroform/Aceton (10:1) erhielt man von Fraktion 1.3 aus der blauen Hauptzone (R_F -Wert ca. 0.5) nach Auswaschen der Oxalsäure mit Wasser (kein Trocknen mit Natriumsulfat, da es die Substanz adsorbiert) 500 mg α -Gleison, welches aus Chloroform/Cyclohexan feinkristallin anfiel: blauschwarze Kristalle, die bei 210° unter Zersetzung schmelzen. Laut Dünnschichtchromatogramm (System I) enthält das Produkt geringe Mengen einer gelblichen Substanz, die auch durch Chromatographie in anderen Lösungsmittelsystemen

nicht restlos entfernt werden konnten. Offensichtlich handelt es sich um ein Zersetzungsprodukt von α -Gleison.

α -Gleison ist in polaren organischen Lösungsmitteln wie Aceton und Methanol mäßig, in unpolaren schlecht löslich; Lösungsfarbe blau bis blauviolett. In wässr. Alkalihydroxid löst es sich ebenfalls mit blauer Farbe, die aber rasch verblaßt; in konz. Schwefelsäure ist es dunkelgrün.

$C_{27}H_{20}O_{10}$ (504.4)	Ber.	C 64.28	H 4.00	1 OCH_3	6.15
	Gef. +)	C 64.58	H 4.24	OCH_3	6.35

+) 24 Stdn. i. Hochvak. bei 80° getrocknet.

4. Weitere Auftrennung der Fraktion 1.2

Man verteilte die Lösung von Fraktion 1.2 in 1 l Chloroform auf zwei 8x80 cm-Säulen von gefälltem Gips (Riedel de Haen, 5 Stdn. bei 165° aktiviert). Mit Chloroform als Laufmittel entwickelten sich drei Hauptzonen, die ins Filtrat gewaschen wurden. Die zuerst eluierte Fraktion (2.1, $R_F = 0.9$) war gelb gefärbt und enthielt im wesentlichen Substanzen, die auch schon in Fraktion 1.1 enthalten waren. Die zweite Zone (Fraktion 2.2) war karminrot und enthielt neben gelben Produkten und etwas δ -Gleison die gesamte Menge γ -Gleison. Die dritte zone (Fraktion 2.3) enthielt die gesamte Menge β -Gleison sowie δ -Gleison und zahlreiche Begleitsubstanzen. Nach Eindampfen der Eluate i. Vak. erhielt man 2 g von Fraktion 2.1, 500 mg von Fraktion 2.2 und 3 g von Fraktion 2.3.

5. Weitere Auftrennung von Fraktion 2.2 im System III und Gewinnung von γ -Gleison (39).

500 mg von Fraktion 2.2 löste man in 500 ccm eines Gemisches von Chloroform/Aceton/Methanol (1:1:1), gesättigt mit festem Natriumhydrogencarbonat, wobei man mit an Natriumhydrogencarbonat gesättigtem Methanol anlöste, und gab die violette Lösung auf eine 8x50 cm-Säule von $NaHCO_3$ -Kieselgel. Beim Entwickeln liefen gelbe Zonen an der Front. Geringe Mengen von δ -Gleison, welches mit roter Farbe und leuchtend

roter Fluoreszenz adsorbiert war, liefen schnell genug, um sie vom γ -Gleison abzutrennen, welches einen sehr kleinen R_F -Wert hatte und eine weit auseinandergezogene Zone am Kopf der Säule bildete. Man schnitt die blaue Hauptzone heraus, eluierte mit Chloroform/Methanol/Eisessig, wobei sie sich karminrot färbte, und entfernte Eisessig, Aceton, Methanol und Salze durch Ausschütteln mit Wasser. Nach Trocknen mit Natriumsulfat engte man die Chloroformphase auf 10ccm ein und brachte das γ -Gleison durch Zusatz von Cyclohexan zur Kristallisation: rote Kristalle, die bis 320° nicht schmelzen. In organischen Solventien ist γ -Gleison schwer löslich, am besten noch in Pyridin. Lösungs-farbe in neutralen Lösungsmitteln karminrot, in konz. Schwefel-säure und wässr. Alkalihydroxid blau. Am besten löst es sich in alkohl. Alkalihydroxid, erleidet aber besonders am Licht bald Zersetzung.

$C_{27}H_{20}O_{11}$ (520.4)	Ber.	C 62.30	H 3.87	1 OCH_3	5.98	1 CCH_3	2.9
	Gef. ⁺	C 61.85	H 4.05	OCH_3	5.97	CCH_3	2.9

+) 12 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

6. Weitere Auftrennung der Fraktion 2.3 in den Systemen II und I, Gewinnung von β - und δ -Gleison (44 bzw. 38)

Auf eine 8×80 cm-Säule von feinem Kieselgel, welches mit der Unterphase des Systemes Chloroform/Ameisensäure/Formamid (10:1:1) im Chromatogrammrohr eingeschlämmt worden war, gab man 3 g von Fraktion 2.3 gelöst in dem gleichen Lösungsmittel-gemisch. Beim Eluieren trennten sich zwei Hauptzonen voneinan-der ab: eine gelbrote (R_F -Wert 0.4), welche δ -Gleison enthielt, und eine dunkelviolette (R_F -Wert 0.2) mit der gesamten Menge von β -Gleison. Die Eluate der beiden Zonen schüttelte man mehr-mals mit Wasser durch, um Formamid und Ameisensäure zu entfernen, und chromatographierte sie nach Einengen auf je 0.5 l an je einer 8×80 cm-Säule von Oxalsäure-Kieselgel mit Chloroform/Aceton (20:1) als Laufmittel (System I), um die letzten Ver-unreinigungen zu entfernen. Aus der jeweiligen Hauptzone erhielt man 400 mg β -Gleison bzw. 100 mg δ -Gleison.

β -Gleison kristallisierte aus Chloroform/Cyclohexan in violett-schwarzen, metallisch glänzenden Kristallen, die sich ab 250° zersetzen. β -Gleison löst sich schwer in organischen Solventien mit violettstichig roter Farbe, am besten noch in Pyridin; in konz. Schwefelsäure löst es sich blaugrün, in wässr. Alkalihydroxid blau.

$C_{27}H_{20}O_9$ (488.4)	Ber.	C 66.39	H 4.13	1 OCH_3	6.36	1 CCH_3	3.1
	Gef. ^{*)}	C 66.37	H 4.20	OCH_3	6.42	CCH_3	3.6

^{*)} 12 Stdn. i. Hochvak. getrocknet bei 100° .

δ -Gleison kristallisierte aus Chloroform/Cyclohexan in braunroten Kristallen, die ab 260° unter Zersetzung sintern. Löslichkeit in organischen Solventien etwa wie bei β -Gleison; Lösungsfarbe gelbrot mit gelber Fluoreszenz. In konz. Schwefelsäure löst es sich blau, in wässr. Alkalihydroxid blauviolett.

$C_{27}H_{20}O_{10}$ (504.4)	Ber.	C 64.28	H 4.00	1 OCH_3	6.15	1 CCH_3	3.0
	Gef. ^{*)}	C 63.99	H 4.26	OCH_3	6.15	CCH_3	3.0

^{*)} 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet.

III. Zinkstaubdestillation von δ -Gleison sowie von α -, β - und γ -Gleison

30 mg δ -Gleison verrieb man gründlich mit 5 g Zinkstaub und füllte das rötliche Pulver in ein schwer schmelzbares Glasrohr ($\phi = 1$ cm). Man begrenzte die Probe auf beiden Seiten mit Glaswattepfropfen, nachdem man noch etwas reinen Zinkstaub nachgefüllt hatte. In 10 cm Entfernung von der Substanz war ein weiterer Glaswattepfropfen angebracht, in welchem das Sublimat sich niederschlagen sollte. Von der anderen Seite leitete man nun einen langsamen Wasserstoffstrom durch das Glasrohr und erhitze es mit zwei Gebläsebrennern bis zur beginnenden Rotglut. Die in die kälteren Teile des Glasrohres und in den Glaswattepfropfen sublimierte gelbe, feste Substanz von drei derartigen Ansätzen (ca. 15 mg) löste man in wenig Benzol

und chromatographierte das Gemisch an einer 6x60 cm-Säule von basischem Aluminiumoxid (Merck, Aktivitätsstufe II nach H. Brockmann). Es bildeten sich drei schwach gelb gefärbte Zonen, von denen die zuerst eluierte im UV-Licht blaugrün und die beiden darüberliegenden, nur durch eine etwas schwächer fluoreszierende Zwischenzone voneinander getrennten, leuchtend grün fluoreszierten. Man chromatographierte die Eluate der einzelnen Zonen jeweils noch einmal unter den gleichen Bedingungen und dampfte dann die für einheitlich befundenen Eluate zur Trockne: Rückstand fest.

Das in Benzol aufgenommene Elektronenspektrum der Substanz aus der untersten Zone war praktisch identisch mit dem des Isopentaphens (1). Die Inhaltsstoffe der Zonen 2 und 3 hatten untereinander praktisch gleiche Absorptionskurven, die dem Hexaphen (2) sehr ähnlich waren.

Unter den gleichen Bedingungen wurde auch die Zinkstaubdestillation der übrigen drei Gleisone (α -, β - und γ -Gleison) durchgeführt. Die Chromatographie der Reaktionsprodukte gab in allen drei Fällen das gleiche Bild wie beim δ -Gleison. Die Elektronenspektren der Fraktionen waren mit den soeben beschriebenen identisch.

IV. Wasserabspaltungsprodukte

1. Anhydro- δ -gleison aus δ -Gleison durch Wasserabspaltung mit Bromwasserstoffsäure

Eine Lösung von 40 mg δ -Gleison in 100 ccm Eisessig versetzte man in der Hitze mit 50 ccm 40-proz. Bromwasserstoffsäure, kochte das Gemisch 1 Stde. am Rückfluß und destillierte dann die Flüssigkeit i. Vak. ab. Den braunen, kristallisierten Rückstand chromatographierte man im System I, wobei nur eine einheitliche gelbrote, gelb fluoreszierende Zone (R_F -Wert 0.8) beobachtet wurde. Nach der üblichen Aufarbeitung des Eluates erhielt man Anhydro- δ -gleison aus Chloroform/Cyclohexan in Form von braunroten Kristallen, die bei 280° unter Zersetzung schmolzen. Die R_F -Werte von Anhydro- δ -gleison in den Lösungsmittelsystemen I-V sind größer als die der Ausgangsverbindung.

Die Absorptionskurve von Anhydro- δ -gleison hat nahezu die gleiche Form wie die von δ -Gleison, jedoch sind die Maxima um ca. 3 μ langwellig verschoben. Die Farbe in organischen Solventien ist etwa die gleiche wie beim Ausgangsprodukt, dagegen ist die Löslichkeit in unpolaren Lösungsmitteln merklich höher als die des δ -Gleisons.

$C_{27}H_{18}O_9$ (486.4)	Ber.	C 66.67	H 3.73	1 OCH_3	6.38
	Gef. +)	C 66.37	H 3.70	OCH_3	6.09
				Mol.-Gew.	486 ++)

+) 12 Std. bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

++) aus dem Massenspektrum.

2. Anhydro- γ -gleison

Die Lösung einer kleinen Probe von γ -Gleison in 5 ccm Eisessig versetzte man mit 2 ccm 40-proz. Bromwasserstoffsäure und kochte 1 Stde. am Rückfluß. Der kristalline, braunrote Rückstand, der nach dem Abdestillieren der Flüssigkeit i. Vak. zurückblieb, war bereits chromatographisch reines Anhydro- γ -gleison.

Die Lösungsfarbe in den gebräuchlichen Lösungsmitteln ist karminrot wie beim Ausgangsprodukt, jedoch ist die Löslichkeit in unpolaren Solventien größer als die der Ausgangsverbindung. Die R_F -Werte in den Systemen I-V sind größer als die von γ -Gleison.

3. Anhydro- β -gleison

Man löste 250 mg β -Gleison in 250 ccm konz. Schwefelsäure und goß die dunkelgrüne Lösung nach 5 Min. unter Umrühren auf Eis. Der violette Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Seine Lösung in Chloroform chromatographierte man an einer 8x80-cm-Säule aus Oxalsäure-Kieselgel, schüttelte das Eluat der violetten Hauptzone mit Wasser aus und dampfte die Chloroformphase i. Vak. zur Trockne. Beim Umkristallisieren des Rückstandes aus Methanol und anschließend aus Chloroform/Cyclohexan erhielt man violett, metallisch

glänzende Kristalle, die ab 260° sintern und sich bei 290° unter Aufblähen zersetzen; Ausbeute 180 mg.

Die Löslichkeit von Anhydro- δ -Gleison in organischen Solventien ist besonders in den unpolaren Benzol und Chloroform deutlich größer als bei der Ausgangsverbindung. Ansonsten ist das Löslichkeitsverhalten und die Farbe der Lösungen ähnlich wie bei δ -Gleison.

$C_{27}H_{18}O_8$ (470.4)	Ber.	C 68.93	H 3.86	1 OCH_3	6.60
	Gef. +)	C 69.00	H 3.78	OCH_3	6.28
				Mol.-Gew.	470 ⁺⁺)

+) 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

++) aus dem Massenspektrum.

V. Acetate

1. Anhydro- δ -Gleison-tetraacetat

50 mg δ -Gleison wurden in 10 ccm Pyridin weitgehend gelöst und mit 5 ccm Acetanhydrid versetzt. Nachdem sich alles gelöst hatte und die Farbe des Gemisches von braunrot nach gelb umgeschlagen war, nahm man alle 5 Min. Proben, die dünnschichtchromatographisch untersucht wurden (Oxalsäure-Kieselgel, Laufmittel Chloroform). Die Reaktion wurde abgebrochen, als ein tiefgelbes Zwischenprodukt (Triacetat), welches im UV-Licht gelb fluoreszierte und in dem genannten System einen R_F -Wert von 0.9 hatte, zu einem hellgelben, nicht fluoreszierenden Acetat mit R_F -Wert 0.5 umgesetzt worden war. Nach Abdestillieren von Pyridin und Acetanhydrid i. Hochvak. chromatographierte man den Rückstand aus Chloroform an einer 5x60 cm-Säule von Oxalsäure-Kieselgel. Das Eluat der langsam laufenden hellgelbgrünen Hauptzone wurde zur Entfernung der Oxalsäure mit Wasser ausgeschüttelt und nach Trocknen über Natriumsulfat i. Vak. zur Trockne eingedampft. Aus wenigen ccm Benzol fiel das Acetat nach Zusatz von Cyclohexan in gelben Kristallen aus, die ab 280° unter Zersetzung schmolzen. Ausb. ca. 50 mg.

$C_{35}H_{26}O_{13}$ (654.6) Ber. 4 $COCH_3$ 26.3%
 Gef.⁺⁾ $COCH_3$ 25.4%⁺⁺⁾

⁺⁾ 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

⁺⁺⁾ sauer verseift.

2. Anhydro- γ -gleison-pentaacetat

Eine Lösung von 40 mg γ -Gleison in 15 ccm Pyridin/Acetanhydrid (2:1) ließ man im verschlossenen Kolben 5 Stdn. stehen, destillierte dann die Flüssigkeit i. Hochvak. ab und chromatographierte den Rückstand aus Chloroform an Oxalsäure-Kieselgel. Das Eluat der gelben Hauptzone lieferte nach der üblichen Aufarbeitung ca. 40 mg Substanz, die aus wenig Benzol/Cyclohexan in gelben Kristallen anfiel, die bei 280° schmelzen.

$C_{37}H_{28}O_{15}$ (712.6) Ber. C 62.53 H 3.96 5 $COCH_3$ 30.2
 Gef.⁺⁾ C 63.58 H 4.12 $COCH_3$ 25.6⁺⁺⁾
 $COCH_3$ 29.6⁺⁺⁺⁾

⁺⁾ 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

⁺⁺⁾ sauer verseift

⁺⁺⁺⁾ alkalisch verseift.

3. Acetylierung von β -Gleison

150 mg β -Gleison wurden mit 15 ccm eines Gemisches von Pyridin/Acetanhydrid (2:1) übergossen und so lange geschüttelt, bis alles gelöst war. Die Farbe der Lösung ging dabei allmählich von braunrot nach gelb über. Nachdem dünnschichtchromatographisch festgestellt worden war, daß alle Ausgangssubstanz umgesetzt war, (Oxalsäure-Kieselgel/ Chloroform), goß man das Gemisch auf Eis. Der rote Niederschlag wurde abzentrifugiert, in Chloroform gelöst und aus Chloroform/Aceton (20:1) an Oxalsäure-Kieselgel chromatographiert. Man verarbeitete die Eluate wie bei den anderen Acetylierungen und erhielt wenige mg eines karminroten Monoacetates, 90 mg eines roten Diacetates und 50 mg des gelben Triacetates.

Anhydro- β -gleison-diacetat kristallisierte aus Benzol/Cyclohexan in roten Kristallen, die bei 260° unter Zersetzung schmelzen.

$C_{31}H_{22}O_{10}$ (554.5)	Ber.	C 67.15	H 4.00	2 $COCH_3$	15.5
	Gef.+)	C 67.47	H 4.04	$COCH_3$	14.9 ⁺⁺)
				Mol.-Gew.	554 ⁺⁺⁺)

Anhydro- β -gleison-triacetat erhielt man aus Benzol/Cyclohexan in gelben Kristallen, die sich ab 250° zersetzen.

$C_{33}H_{24}O_{11}$ (596.5)	Ber.	C 66.47	H 4.06	3 $COCH_3$	21.6
	Gef.+)	C 66.38	H 4.20	$COCH_3$	21.5 ⁺⁺⁺⁺)

+) 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

++) Der Wert wurde bei saurer und alkalischer Verseifung gefunden.

+++) Mol.-Gew. aus dem Massenspektrum

++++) alkalisch verseift.

4. Anhydro- α -gleison-tetraacetat

Eine Lösung von 50 mg α -Gleison in 30 ccm Pyridin/Acetanhydrid (2:1) ließ man im verschlossenen Kolben 10 Stdn. stehen, destillierte dann die Flüssigkeit i. Hochvak. ab und chromatographierte den Rückstand aus Chloroform an Oxalsäure-Kieselgel. Violette, gelbe und rote Nebenzonen wurden nicht untersucht. Aus dem Eluat der gelben Hauptzone erhielt man nach Ausschütteln mit Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen des Lösungsmittels i. Vak. 30 mg eines Acetates, das aus Chloroform/Cyclohexan in gelben Kristallen anfiel, die bei 200° unter Zersetzung schmelzen.

$C_{35}H_{26}O_{13}$ (654.5)	Ber.	C 64.22	H 4.01	4 $COCH_3$	26.3
	Gef.+)	C 63.58	H 3.62	$COCH_3$	24.7 ⁺⁺)
				Mol.-Gew.	654 ⁺⁺⁺)

+) 12 Stdn. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

++) sauer verseift +++) aus dem Massenspektrum.

VI. Entmethylierung von δ -Gleison

in eine 50° warme, gelbrote Lösung von 30 mg δ -Gleison in 300 ccm Chlorbenzol trug man unter ständigem Rühren 3 g Aluminiumbromid ein, wobei sich die Lösung blaugrün färbte. Nach 15 Min. goß man das Gemisch in 1 l Wasser ein, in welchem sich der Aluminiumkomplex mit blauer Farbe löste. Man entfernte die farblose Chlorbenzolphase und wusch die wässr. Phase noch zweimal mit Chloroform durch. Nach Zusatz von 20 ccm konz. Salzsäure kochte man die blaue wässr. Lösung, bis die Farbe in gelbrot umschlug und eine Trübung eintrat. Nach dem Abkühlen extrahierte man mit 300 ccm Chloroform und engte die gelbrote Chloroformphase nach zweimaligem Ausschütteln mit Wasser auf 20 ccm ein. Diese Lösung gab man auf eine 4x50 cm-Säule von wasserfreiem Natriumsulfat und entwickelte mit Chloroform. Man verwarf zwei schwache, gelbrote zonen, die an der Lösungsmittelfront liefen, und wusch die gelbrote Hauptzone nach zugabe von 5% Aceton zum Chloroform ins Filtrat. Nach Ausschütteln mit Wasser und Einengen der Chloroformphase auf 10 ccm erhielt man das δ -Gleison-Entmethylierungsprodukt durch Zusatz von Cyclohexan in dunkelroten Kristallen, die bei 270° schmelzen. Die Löslichkeit des Produktes in organischen Lösungsmitteln entspricht der von δ -Gleison; es löst sich aber deutlich in wässr. Natriumhydrogencarbonat.

$C_{26}H_{18}O_{10}$ (490.5)	Ber.	C 63.67	H 3.70	OCH_3 0.0
	Gef. ⁺⁾	C 61.74	H 3.82	OCH_3 0.2
		Mol.-Gew. 490 ⁺⁺⁾		

⁺⁾ 12 Stdn. bei 100° i. Hochvak. getrocknet

⁺⁺⁾ aus dem Massenspektrum.

VII. Methylierung von δ -Gleison

70 mg δ -Gleison löste man in 100 ccm 0.01 n methanolischer Natronlauge und dampfte das Lösungsmittel i. Vak. weitgehend ab. Den blavioletten Rückstand suspendierte man in 100 ccm Aceton, gab 10 g Natrium carbonat und 2 ccm Dimethylsulfat zu und kochte 24 Std. unter ständigem Rühren am Rückfluß, wobei man noch dreimal je 1 ccm Dimethylsulfat zugab. Man verdünnte die gelbe Reaktionslösung mit 100 ccm Chloroform, schüttelte mehrmals mit Wasser durch und chromatographierte die auf 20 ccm eingeeengte Chloroformlösung an einer 4x100 cm-Säule im System II. Es bildeten sich zwei, erst am Ende der Säule getrennte, gelbe Hauptzonen. Das Eluat der unteren lieferte nach mehrmaligem Ausschütteln mit Wasser und Einengen der Chloroformphase ein Produkt, das aus Chloroform/Cyclohexan in gelben Kristallen ausfiel. Ausb. 40 mg.



Gef. +) Mol.-Gew. 574⁺⁺) 6 OCH_3 ⁺⁺⁺)

+) 10 Std. i. Hochvak. bei 100° getrocknet

++) aus dem Massenspektrum

+++) aus dem NMR-Spektrum.

Aus der zweiten gelben Zone erhielt man 10 mg eines Produktes, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Sein IR-Spektrum in Chloroform und KBr ist identisch mit dem des Hauptproduktes.

VIII. Umwandlung von β -Gleison in δ -Gleison

Zu einer Suspension von 60 mg β -Gleison in einem Gemisch von 70 ccm Dioxan und 30 ccm Wasser, welches 10 g Kaliumperoxydisulfat enthielt, gab man unter ständigem Schütteln und Kühlen nach und nach 70 ccm konz. Schwefelsäure. Dabei trennte sich das Gemisch in eine violettrote Ober- und eine farblose, wässr. Unterphase. Man stellte dünnschichtchromatographisch fest (Oxalsäure-Kieselgel/ Chloroform/Aceton (20:1)), daß sich neben unverändertem Ausgangsprodukt ($R_F=0.65$) eine

gelbrote, gelb fluoreszierende Substanz gebildet hatte, die nur wenig schneller lief ($R_F=0.7$). Man ließ das Gemisch stehen, bis keine Ausgangsverbindung mehr nachzuweisen war, trennte die wässr. Unterphase ab, schüttelte die jetzt gelbrot gefärbte Dioxanphase nach Zusatz von 100 ccm Chloroform fünfmal mit Wasser aus, um Säure und Dioxan weitgehend zu entfernen, und chromatographierte die eingeeengte Chloroformlösung an Oxalsäure-Kieselgel aus Chloroform/Aceton (20:1). Nach Abtrennung einer an der Lösungsmittelfront laufenden roten Zone erhielt man aus dem Eluat der gelbroten Hauptzone nach mehrmaligem Ausschütteln mit Wasser eine gelbrote Chloroformlösung, aus der sich nach Einengen auf 5-10 ccm gelbbraune Kristalle abschieden, die ab 250° unter Zersetzung schmelzen.

Ausb. ca. 40 mg

Elektronenspektrum und IR-Spektrum des Reaktionsproduktes sind identisch mit denen des δ -Gleisons. Die Substanz hat in den chromatographischen Systemen I-V und im Tetralin/Dekalin/Eisessig/Wasser-System die gleichen R_F -Werte wie δ -Gleison. Auch Lösungsverhalten, Farbe der Lösungen und die Adsorptionsfarben an Gips und Kieselgel sowie die Fluoreszenz sind die gleichen wie beim δ -Gleison.

$C_{27}H_{20}O_{10}$ (504.4)	Ber.	C 64.28	H 4.00	1 OCH_3	6.15
	Gef. +)	C 64.90	H 4.30		6.09

+) 12 Std. i. Hochvak. bei 100° getrocknet.

Literaturverzeichnis

- 1) S. Miyamura, Antib. Chemother. 6, 280 (1956)
- 2) C.C. Stock, Amer. J. Med. 8, 658 (1950)
- 3) Ch. Hackmann, Zschr. Krebsforsch. 58, 607 (1952)
- 4) H. Brockmann, Fortschr. org. Naturst. 18, 1 (1960)
- 5) E. Wimmer, Dissertation, Göttingen 1962
- 6) J. Niemeyer, Dissertation, Göttingen 1966
- 7) E. Roselius, Diplomarbeit, Göttingen 1962
- 8) A. v. Baeyer, Liebigs Ann. Chem. 140, 259 (1866)
- 9) E. Clar, Ber. dtsch. Chem. Ges. 81, 68 (1948)
- 10) E. Clar, Ber. dtsch. Chem. Ges. 72, 1645 (1939)
- 11) E. Clar, Polycyclic Hydrocarbons. S. 404, Springer-Verlag, Berlin- Göttingen- Heidelberg
- 12) E. Clar, S. 417
- 13) H. Brockmann und W. Müller, Ber. dtsch. Chem. Ges. 91, 1020(1958)
- 14) H. Brockmann jr., Dissertation, Göttingen 1963
- 15) H. Brockmann und W. Lenk, Ber. dtsch. Chem. Ges. 92, 1880 (1959)
- 16) L. J. Bellamy, The Infra-red Spectra of Complex Molecules, Methuen u. Co., Ltd. London 1959
- 17) F. W. McLafferty, Mass Spectrometry of Organic Ions, S. 337, Academic Press, New York and London 1963
- 18) G. Spiteller, pers. Mitteilung
- 19) Pople, Schneider, Bernstein, High Resolution NMR, S. 250, McGraw-Hill Book Company, Inc. London
- 20) H. J. Teuber, Ber. dtsch. Chem. Ges. 85, 95 (1952)

Bedanken möchte ich mich bei

Herrn Prof. Dr. W. Lüttke und Herrn Prof. G. Spiteller für anregende Diskussionen bei der Auswertung der IR- und Massenspektren,

Herrn Dr. O. Pfundt und Herrn M. Beller für die Ausführung der Mikroanalysen,

Frau I. Beller für die Messung der NMR-Spektren,

Herrn Prof. Dr. G. Spiteller sowie Herrn Dr. H. Budzikiewicz und Herrn Dr. H. Brockmann jr. für die Messung der Massenspektren,

Frau M. Lackner für die Ausführung der mikrobiologischen Arbeiten.

Lebenslauf

Am 27. Februar 1936 wurde ich als Sohn des pr. Arztes Aribert Peterssen-Borstel und seiner Ehefrau Mathilde, geb. Buck, in Adelsdorf in Schlesien geboren. Dort besuchte ich von 1942-1945 die Volksschule. Nach der Flucht nach Westdeutschland besuchte ich in Lübeck die altsprachige Abteilung des Katharineums, wo ich im Februar 1955 die Reifeprüfung ablegte.

Nach einem Semester Medizinstudium in Köln erhielt ich im Wintersemester 1955 die Zulassung zum Chemiestudium in Göttingen. Im Herbst 1958 bestand ich das Vordiplom. Während dieser Zeit behielt ich die Medizin als zweites Studium bei und machte im November 1959 das Physikum. Von 1959-1961 führte ich unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. H. Brockmann meine Diplomarbeit über das Thema "Substitutionsreaktionen am Dihydroactinomycin C₂" durch, die ich mit dem mündlichen Diplom-Hauptexamen im Dezember 1961 abschloß.

In der folgenden Zeit arbeitete ich wieder unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. Brockmann an der vorliegenden Dissertation.

Für wissenschaftlichen Unterricht danke ich meinen akademischen Lehrern, den Professoren Dr. H. Brockmann, H.J. Deuticke, Dr. B. Franck, Dr. E. U. Franck, Dr. O. Glemser, Dr. R. Hilsch, Dr. W. Jost, Dr. K. Kramer, Dr. W. Lüttke, Dr. H. Musso, Dr. G. O.Schenck, Dr. A. Schneider, Dr. U. Schöllkopf, Dr. G. Spitteller, Dr. H. Strehlow, Dr. O. Thiele.

